DIE WIRKUNGEN VON MONOMEREN UND DIMEREN ANDROGEN–GESTAGEN–KOMBINATIONEN AUF DIE WEIBLICHE RATTE

Ruth Schneider

Diss. Frankfurt am Main
1983

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Aus dem Zentrum der Frauenheilkunde und
Geburtshilfe der Johann Wolfgang Goethe-
Universität in Frankfurt am Main:
(Geschäftsführender Direktor:
Prof. Dr. med. H. Schmidt-Matthiesen)
Abteilung für gynäkologische Endokrinologie
(Leiter: Prof. Dr. med. H.-D. Taubert)

DIE WIRKUNGEN VON MONOMEREN UND DIMEREN ANDROGEN-GESTAGEN-KOMBINATIONEN AUF DIE WEIBLICHE RATTE

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des
Doktorgrades der gesamten Medizin
des Fachbereichs Humanmedizin der Johann
Wolfgang Goethe-Universität in
Frankfurt am Main

vorgelegt von
Ruth Schneider
aus Lützen

Frankfurt a.M. 1983

Dekan:	Prof. Dr.med. H.J. Müller
Referent:	Prof. Dr.phil.nat. H. Kuhl
Korreferent:	Prof. Dr.-Ing. L. Träger
Tag der mündlichen Prüfung:	31.10.1983

Druck: Dipa - Druck, 6000 Frankfurt, Tel. 55 61 88

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

1. EINLEITUNG 1

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1. Testsubstanzen 7

2.2. Tiere und Versuchsanordnung 10

2.3. Vaginalabstriche 13

2.4. Tötung und Organentnahme 14

2.5. Histologische Beurteilung von Ovarien und Uteri 14

2.6. Radioimmunologische Bestimmung der Testosteron-, Östradiol- und LH-Serumkonzentrationen 15

2.7. Statistische Methoden 17

3. ERGEBNISSE

3.1. Die Wirkung des dimeren Testosteron-Ethynodiol-Esters in 5 bzw. 10 mg-Dosierungen auf die Organgewichte von Ovarien, Uterus, Hypophyse, Nebennieren und M.levator ani reifer intakter weiblicher Ratten 18

3.2. Der anti-östrogene Effekt des dimeren Testosteron-Ethynodiol-Esters in den Dosierungen von 5, 10, 20 bzw. 40 mg, von Norethisteronönanthat sowie Testosteronönanthat in den Dosierungen von jeweils 6 bzw. 12 mg auf die Vaginalzytologie reifer weiblicher kastrierter Ratten 21

3.3. Die dosisabhängige Wirkung des dimeren Testosteron-Ethynodiol-Esters auf die Organgewichte des rechten Ovars, Uterus, Nebennieren, Hypophyse und M.levator ani reifer weiblicher hemikastrierter Ratten, sowie auf die Morphologie des Uterus und rechten Ovars .23

3.3.1. Die dosisabhängige Wirkung des dimeren Testosteron-Ethynodiol-Esters auf den LH-Serumspiegel reifer weiblicher hemikastrierter Ratten 38

3.3.2. Die dosisabhängige Wirkung des dimeren Testosteron-Ethynodiol-Esters auf den Östradiol-Serumspiegel reifer weiblicher hemikastrierter Ratten 40

3.4. Die Wirkung des dimeren Testosteron-Ethynodiol-Esters in den Dosierungen von 10 bzw. 20 mg sowie von Testosteron-önanthat + Norethisteronönanthat in den Dosierungen von je 6 bzw. 12 mg auf die Organgewichte von Ovarien, Uterus und Hypophyse reifer intakter weiblicher Ratten, sowie auf die Morphologie des Uterus und der Ovarien 42

3.4.1. Die Wirkung des dimeren Testosteron-Ethynodiol-Esters in den Dosierungen von 10 bzw. 20 mg sowie von Testosteron-önanthat + Norethisteronönanthat in den Dosierungen von je 6 bzw. 12 mg auf den LH-Serumspiegel reifer intakter weiblicher Ratten 57

3.4.2. Die Wirkung des dimeren Testosteron-Ethynodiol-Esters in den Dosierungen von 10 bzw. 20 mg sowie von Testosteron-önanthat und Norethisteronönanthat in den Dosierungen von je 6 bzw. 12 mg auf den Testosteronserumspiegel reifer intakter weiblicher Ratten 59

3.4.3. Die Wirkung des dimeren Testosteron-Ethynodiol-Esters in den Dosierungen von 10 bzw. 20 mg sowie von Testosteron-önanthat und Norethisteronönanthat in den Dosierungen von je 6 bzw. 12 mg auf den Östradiolserumspiegel reifer intakter weiblicher Ratten 61

3.5. Die Wirkung des dimeren Testosteron-Ethynodiol-Esters in den Dosierungen von 2, 5 bzw. 10 mg, von Testosteron-önanthat sowie Norethisteronönanthat in den Dosierungen von jeweils 6 mg auf die Organgewichte von Ovarien, Uterus, Hypophyse und Nebennieren neugeborener weiblicher Ratten 63

3.6. Die Wirkungen von Mesterolon, Norethisteron sowie Testosteron in den Dosierungen von 0,3 mg bzw. 2 mg auf die Organgewichte des Uterus und der Ovarien reifer intakter weiblicher Ratten 66

4. DISKUSSION 70

5. ZUSAMMENFASSUNG 84

6. LITERATURVERZEICHNIS 86

8. ANHANG DER MESSWERTE

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41523704_0031

1. EINLEITUNG

Depotpräparate dienen der Aufgabe, ein Pharmakon über einen größeren Zeitraum verzögert freizusetzen. Dabei sollte der Blutspiegel über die gesamte Wirkdauer gerade so hoch sein, daß ein therapeutischer Effekt erzielt wird, ohne daß unerwünschte Wirkungen auftreten. Das setzt voraus, daß der Depoteffekt nicht durch eine Dosiserhöhung erzielt werden darf, da sonst der toxische Effekt zu Ungunsten des therapeutischen Effekts überwiegen würde (13, 25).

Ein Depotpräparat läßt sich sowohl durch unterschiedliche Applikationsformen als auch durch die Modifikation der chemischen Struktur herstellen. So lassen sich Steroidhormone in Form von wasserlöslichen Polyphosphaten verabreichen, in mikrokristalliner Suspension injizieren oder in Depotkapseln subcutan implantieren. Durch Veresterung der Hydroxylgruppe an C_{17} oder C_3 mit Fettsäuren verschiedener Kettenlänge gelangte man zu injizierbaren Depotpräparaten. Der Depoteffekt eines Steroidhormonesters wird auch noch von weiteren Faktoren beeinflußt, z.B. der verzögerten Abgabe aus dem Injektionsort, der Deponierung in sekundären Depots (z.B. Fettspeicher, Zellipoide und dem Retikulo-endothelialen System) und der Ausscheidungsrate. Dabei spielt auch die Verzögerung der Elimination bei der Verlängerung der Wirkdauer eine wichtige Rolle,

UNIV. LEIDEN PHL.

da Steroidester hydrolysiert werden müssen, bevor der Organismus sie - meist in Form ihrer Glucuronide bzw. Sulfate - ausscheiden kann (26).

Auf der Suche nach geeigneten Depotpräparaten konnten Kuhl und Taubert (1973, 1974) zeigen, daß oligomere Östrogenderivate und dimere Gestagene und Androgene bei der Ratte einen ausgeprägten Depoteffekt besitzen (27, 28). Dabei ist zu bemerken, daß oligomere Steroide als Steroidhormonmoleküle beschrieben werden können, die statt mit einer Fettsäure mit einem Steroidhormonhemisuccinat verestert sind (29). Weiterhin wurde festgestellt, daß durch die Veresterung von Testosteron mit Fettsäuren Präparate hergestellt werden können, deren Wirkungsverzögerung (Depoteffekt) direkt proportional zur Kettenlänge der Fettsäure ist (29). Ein optimaler Depoteffekt wird erzielt, wenn das Önanthat des Testosterons benutzt wird, während beim Östradiol das Undecylat die längste Wirkungsdauer aufzeigt (25).

1981 gelang es Kuhl et al. Testosteron mit dem stark wirksamen Gestagen Ethynodiol mittels einer C_{17}- C_3-Bernsteinsäureesterbrücke zu einem dimeren Molekül zu verknüpfen. Dabei entstand (3-Oxo-4-androsten-17 ß-yl) - (17 ß-hydroxy-17 α-ethynyl-4-estren-3 ß-yl) - Succinat, mit der Kurzbezeichnung KL 310.

Dieses dimere Sexualsteroid wurde bezüglich seiner Eigenschaft als Depotpräparat und seiner möglichen Verwendung als hormonelles Kontrazeptivum für den Mann an reifen, intakten, männlichen Ratten in einer früheren Arbeit (32) untersucht. Dabei führte eine einmalige intramuskuläre Injektion zu einer langfristigen und reversiblen Hemmung der Spermatogenese, die durch histologische und morphometrische Untersuchungen der Hoden nachgewiesen werden konnte. Als Vorteil zeigte sich, daß Libido und Sexualverhalten nicht beeinflußt wurden (7, 8). Eine Nebenwirkung war die Reduzierung des Körpergewichts und die Zunahme des Gewichts der Nebenniere (32).

Es ist bekannt, daß Sexualsteroide mit Depoteffekt sowohl zur Antikonzeption eingesetzt werden, wie z. B. das Norethisteronönanthat als Gestagenpräparat, als auch therapeutische Verwendung finden.

Vor allem aus der Gruppe der Gestagene, die definitonsgemäß die sekretorische Transformation eines proliferierenden Endometriums bewirken und eine schwangerschaftserhaltende Funktion besitzen, stehen verschiedene synthetische Gestagene mit vielfältigen Einsatzmöglichkeiten zur Verfügung.

So ist bekannt, daß die Ester des 17 α-Hydroxy-Progesterons, von denen z.B. Cyproteronacetat oder Chlormadinonacetat

außer der starken gestagenen Wirkung auch eine ausgeprägte anti-androgene Partialwirkung besitzen, Anwendung bei der Behandlung des Hirsutismus finden. Das ebenfalls zu der Gruppe der 17 α-Hydroxy-Progesteron-Derivate gehörende Medroxyprogesteronacetat wird als Depotgestagen bei der hormonellen Kontrazeption eingesetzt (46).

Bei den meisten der in den Ovulationshemmern enthaltenen Gestagenen, wie z.B. das Norethisteron, handelt es sich um Derivate des 19-Nortestosterons; dies erklärt ihre schwache androgene Partialwirkung, die bei entsprechender Disposition der Frauen zu klinischen Manifestationen führen kann.

Eine weitere Möglichkeit der klinischen Anwendung synthetischer Gestagene besteht bei Endometriose, Infertilität, Pubertas Präcox usw. Bei Endometriose hat sich insbesondere das synthetische Ethisteron-Derivat "Danazol ^{R}" bewährt. Es übt seine Wirkung über die Beeinflussung hypothalamischer Releasing-Hormone und über die Hemmung der Synthese und Ausschüttung hypophysärer Gonadotropine aus und besitzt eine geringe anabole bzw. androgene Eigenwirkung (18).

Aber nicht nur Gestagene, sondern auch Androgene, die ebenfalls Steroidhormone und zur Ausbildung männlicher Geschlechtsmerkmale notwendig sind, finden vielfältige Verwendungsmöglichkeiten. Neben ihren geschlechtsspezifischen Eigenschaften haben sie auch anabolen Charakter.

So wurden wie bei den Gestagenen auch bei den Androgenen synthetische Derivate entwickelt; z.B. erhielt man durch die Veresterung mit langen Seitenketten Präparate mit Depotwirkung (Testosteronönanthat).

Jedoch ist im Gegensatz zu den Gestagenen die Anwendung von Androgenen nur begrenzt indiziert. Therapeutische Anwendung finden sie bei klimakterischen Ausfallerscheinungen, beim Abstillen oder im Hinblick auf ihre anabole Partialwirkung.

Zudem hat man in den letzten Jahren ein weiteres Wirkungsspektrum hormoneller Substanzen entdeckt, und zwar in der Zytostatikatherapie, wo hormonale Stoffe den Vorteil bieten, das Zielgewebe spezifisch zu beeinflussen, ohne das normale gesunde Gewebe zu schädigen. So ist z.B. das Medroxyprogesteronazetat bei Patienten mit metastasierendem Mamma-Ca. oder anderen hormonell beeinflußbaren Tumoren in der Postmenopause indiziert, sowie Androgene, die vor allem beim fortgeschrittenen Mamma- und Uteruskarzinom eingesetzt werden (18).

Fragestellung

Bei der vorliegenden Arbeit sollte die Wirkung des dimeren Testosteron-Ethynodiol-Esters hinsichtlich seiner Depotwirkung in der weiblichen Ratte untersucht und mit dem Effekt der Depotpräparate Testosteronönanthat (T-Ö) und Norethisteronönanthat (N-Ö) verglichen werden.

Insbesondere sollten dabei die gestagenen und androgenen Partialwirkungen der dimeren Substanz auf verschiedene Organe und ihr Einfluß auf die Serumhormonspiegel untersucht werden.

Darüberhinaus sollte festgestellt werden, ob diese neue Substanz Wirkungen entfaltet, die außerhalb des bekannten Spektrums der beiden Komponenten liegt.

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1. Testsubstanzen

Das in unserer Arbeit verwendete KL 310 gehört zu einer neuartigen Klasse von langwirkenden Steroidhormonen, die von Kuhl et al. synthetisiert und beschrieben wurden (29, 28, 27, 30).

Wie bereits erwähnt, stellt KL 310 einen Testosteron-Ethynodiol-Ester dar, der aus zwei Sexualsteroidhormonmolekülen besteht, die über eine Esterbrücke zu einer dimeren Steroidverbindung miteinander verknüpft sind (Abb. 1).

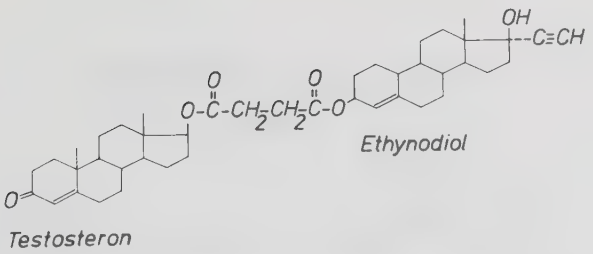
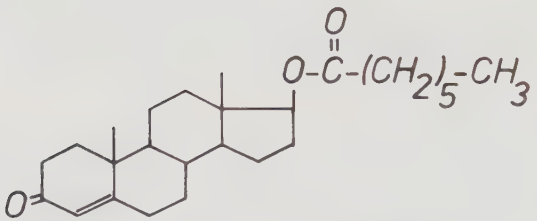


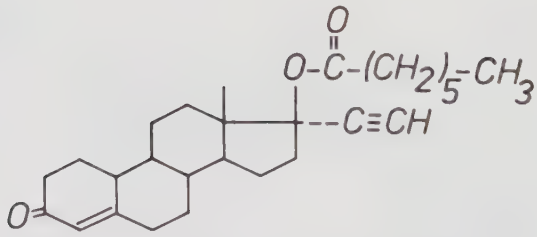
Abb. 1 Strukturformel des dimeren Testosteron-Ethynodiol-Esters KL 310

In einem Versuchsteil wurde als Vergleichssubstanz zum KL 310 eine Mischung aus den Depotpräparaten T-Ö und N-Ö im Verhältnis 1 : 1 verwendet Abb. 2 und 3).



Testosteron-Oenanthat

Abb. 2 Strukturformel des Depotandrogens Testosteron-Önanthat

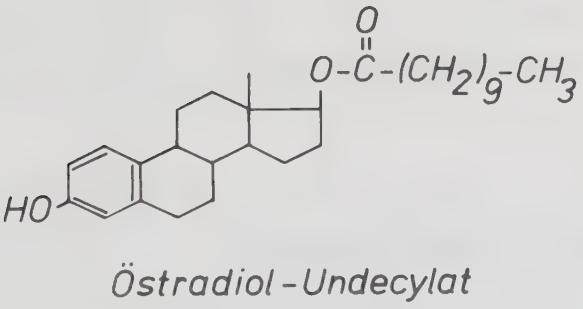


Norethisteron-Oenanthat

Abb. 3 Strukturformel des Depotgestagens Norethisteron-Önanthat

Hierfür wurden Dosierungen von 12 und 24 mg gewählt, deren Steroidanteil 10 und 20 mg der dimeren Verbindung entspricht; außerdem wurden die Depotpräparate T-Ö und N-Ö als Einzelsubstanzen verabreicht.

Bei einem weiteren Versuch über antiöstrogene Wirkungen der Substanz wurden die Tiere mit dem Depot-Östrogen Östradiolundecylat vorbehandelt Abb. 4).



Östradiol-Undecylat

Abb. 4 Strukturformel des Depotöstrogens Östradiolundecylat

Außerdem wurde den Tieren in einem Versuchsteil das synthetische Testosteronderivat Mesterolon verabreicht. Hierbei handelt es sich um ein Steroid aus der Androstanreihe mit einer am C_{17} fehlenden Alkylgruppe. Der Hauptmetabolit ist 1-α-Methylandrostan - 3α- ol-17 on.

Hervorzuheben ist, daß Mesterolon nicht wie z.B. Testosteron zu Östrogenen umgewandelt werden kann und lediglich androgene Wirkungen hervorrufen kann.

Die Wirkungsweise der angegebenen Substanzen wurde an intakten Ratten, an hemikastrierten und an beiderseits kastrierten reifen weiblichen Ratten sowie an neonatalen weiblichen Ratten miteinander verglichen.

2.2. Tiere und Versuchsanordnung

Die Tiere wurden unter standardisierten Bedingungen gehalten (täglich 14 Stunden Licht und 10 Stunden Denkelheit, Raumtemparatur 25°Cbei ungefähr 55 % Luftfeuchtigkeit). Futter und Wasser stand allen Tieren ad libitum zur Verfügung.

Bei den verwendeten Tieren handelte es sich um weibliche Ratten des Stammes SIV, die aus der Zucht der universitätseigenen Tierversuchsanlage stammten.

Für die vorliegende Arbeit wurden verschiedenartige Versuchsmodelle gebildet, die in Gruppen zu je 6 Tieren aufgeteilt wurden und deren Kontrollgruppen jeweils 0,5 ml Arachisöl injiziert bekamen:

- die einmalige Injektion intakter reifer Ratten mit den Dosierungen 5 und 10 mg der dimeren Substanz erfolgte im Metöstrus. Das durchschnittliche Gewicht der Tiere zu Beginn des Versuchs betrug 180 Gramm. Nach jeweils 2, 4, 8 und 12 Wochen wurden die Tiere dekapitiert.

- Geschlechtsreife weibliche Ratten mit einem Durchschnittsgewicht von 180 Gramm wurden beidseitig ovarektomiert. Eine Woche nach der Kastration wurde den Versuchstieren einmalig 50 µg Östradiolundecylat in 0,5 ml öliger Lösung subcutan injiziert. Wiederum eine Woche später erhielten die Tiere KL 310 in den Dosierungen 5, 10, 20 und 40 mg bzw. N-Ö in den Dosierungen 6 und 12 mg oder T-Ö ebenfalls in den Dosierungen 6 und 12 mg einmalig intramuskulär injiziert. Die Wirkung des Östrogens bzw. die antiöstrogene Wirkung der Testsubstanzen wurden mit

Hilfe täglicher Vaginalabstriche beobachtet (siehe 2.3.). Am 4. Tag nach Wiedereintritt in den Daueröstrus wurden die Tiere durch Dekapitation getötet.

- Reife weibliche Ratten wurden einseitig kastriert. Das entnommene linke Ovar wurde sofort gewogen. Am Tag der Hemikastration wurde den Tieren KL 310 in den Dosierungen 10 und 100 µg, 1, 5, 10 und 20 mg intramuskulär injiziert. Alle Ratten wurden nach 14 Tagen getötet.

- Intakte reife weibliche Ratten mit einem Gewicht von jeweils 180 - 200 Gramm erhielten die Substanzen KL 310 in den Dosierungen 10 und 20 mg. bzw. T-Ö + N-Ö in den Dosierungen von je 6 oder je 12 mg als i.m.-Injektionen. Die Dekapitation der Tiere erfolgte nach 1, 2, 4, 6 und 8 Wochen.

- Neugeborene weibliche Ratten mit einem Körpergewicht von ca. 3 Gramm erhielten am 1. und 2. Tag je eine subcutane Injektion von 2, 5 und 10 mg KL 310 bzw. T-Ö oder N-Ö in der Dosis von je 6 mg, gelöst in 0,2 ml Arachisöl. Im Alter von 60 Tagen wurden alle Ratten dekapitiert.

- Intakte reife weibliche Ratten mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von jeweils 200 Gramm erhielten täglich subcutan jeweils 0,3 mg bzw. 2 mg der Substanzen Mesterolon, Testosteron oder Norethisteron über einen Zeitraum von 2 Wochen injiziert.

2.3. Vaginalabstriche

Um die von den getesteten Sexualsteroiden hervorgerufenen typischen Zellveränderungen in den Vaginalepithelien nachzuweisen, wurden bei den Versuchstieren vor Beginn und während der Versuche an 5 Tagen in der Woche (Montag - Freitag) Vaginalabstriche durchgeführt. Die bei intakten reifen Ratten typischen vier Stadien des Östrus-Zyklus können in den entnommenen Abstrichen mikroskopisch festgestellt werden.

1. Diöstrus (Ruhestadium): Schleim, Leukozyten, Epithelzellen

2. Proöstrus (Proliferationsphase): kein Schleim, nur (kernhaltige) Epithelzellen

3. Östrus (Brunst): kernlose "Schollen" (verhornte Epithelien)

4. Metöstrus (Rückbildung): Leukozyten, Epithelzellen, Schollen

2.4. Tötung und Organentnahme

Die Tiere wurden nach Äthernarkose dekapitiert. Das Blut der getöteten Tiere wurde in Reagenzgläsern aufgefangen. Nach vollständiger Gerinnung des Blutes wurde es zur Serumgewinnung 10 Minuten bei 3000 Upm zentrifugiert. Das Serum wurde abpipettiert, eingefroren und bei -20° C bis zur Hormonbestimmung gelagert.

Nach Eröffnung der Bauchhöhle wurden Ovarien, Uterus, Nebennieren und Musculus levator ani entnommen. Der Schädel jeder Ratte wurde vom Foramen magnum aus entlang der Knochennähte eröffnet und die in der Sella turcica gelegene Hypophyse nach Lösung ihrer Kapsel herausgenommen. Nach Abpräparieren des umgebenden Bindegewebes und Fettes wurden alle Organe 24 Stunden in Formalin fixiert. Anschließend wurden die Organe sorgfältig zwischen Filterpapier getrocknet und mittels einer Präzisionswaage gewogen.

2.5. Histologische Beurteilung von Ovarien und Uteri

Die Wirkungen der Präparate KL 310, T-Ö und N-Ö wurden histologisch untersucht. Hierzu wurden den Tieren die Ovarien und der Uterus entnommen, in 5%igem gepuffertem

Formalin (pH 7,2 Phosphatpuffer) fixiert und anschließend in Paraplast ^{R} eingebettet. Anhand von 3 µm dicken, mit Hämatoxillin-Eosin gefärbten Schnitten wurden bei Vergrößerungen von 160 x und 400 x die Veränderungen an Ovarien und Uterus morphometrisch quantifiziert. Die Messungen erfolgten mit einem halbautomatischen Morphometriegerät (MOP AM 01 der Firma Kontron, Starnberg), nachdem jedes Organ in 4 Teile geteilt und histologische Schnitte angefertigt wurden.

2.6. Radioimmunologische Bestimmungen der Testosteron-, Östradiol- und LH-Serumkonzentrationen

Die Serumspiegel von Östradiol und Testosteron wurden mit Hilfe eines kommerziellen Radioimmunassays (Fa. Travenol) bestimmt.

Die Bestimmung der Ratten-LH-Spiegel im Serum wurden folgendermaßen durchgeführt:

In 12 x 75 mm große Röhrchen werden 0,6 ml Phosphatpuffer (0,01 M; pH 7,2; 1 % Rinderserumalbumin, 0,15 M NaCl, 0,1 % Natriumazid) gegeben. Dazu werden bis zu 0,2 ml des zu untersuchenden Serums hinzugefügt. Um eine Standardkurve zu erstellen, wird in 1 % BSA Phosphatpuffer die Referenzpräparation

(NIAMD-Rat-LH-RP I) in steigenden Mengen zwischen 0,5 und 500 nanogramm hinzugefügt. Dazu kommt ^{125}J-Ratten-LH (NIAMD-Rat-LH-S-I) als Tracer, so daß ca. 10.000 cpm in 100 µl 0,1 % BSA Phosphatpuffer enthalten sind. Anschließend werden 100 µl des Antiserums (NIAMD-Anti-Rat-LH-S-I) hinzugegeben, welches vorher mit normalem Kaninchen-Serum (1 : 350 verdünnt) mit 0,01 M Phosphatpuffer (0,05 M EDTA; 0,15 M NaCl, 0,1 Natriumazid) 1 : 5.000 verdünnt wurde. Bei dieser Verdünnung sollten die Antiseren etwa 40 % des markierten Ratten-LH binden.

Die Inkubation mit dem Antiserum erfolgt bei Raumtemperatur für einen Tag bei 4° C. Nach Zugabe des ^{125}J-Ratten-LH wird ein weiterer Tag bei 4°C inkubiert. Anschließend werden 200 µl Ziegen- bzw. Schaf-Anti-Kaninchen-gamma-Globulin als zweiter Antikörper in einer Verdünnung von 1 : 50 hinzugegeben, um den LH-Antikörper-Komplex maximal zu präzipitieren. Nach 2 Tagen Inkubation bei 4° C werden alle Röhrchen bei 1.500 g 15 Minuten zentrifugiert. Der Überstand wird dekantiert und das Präzipitat im gamma-Counter gemessen.

2.7. Statistische Methoden

Für die dargestellten Ergebnisse wurden Mittelwerte, Standardabweichungen und t-Tests nach Student mittels eines Tischcomputers bestimmt.

Die Werte des Signifikanzniveaus (P) wurden der Tabelle aus Cavalli-Sforza entnommen (3).

3. ERGEBNISSE

3.1. Die Wirkung des dimeren Sexualsteroidesters in 5 bzw. 10 mg-Dosierungen auf die Organgewichte von Ovarien, Uterus, Hypophyse, Nebennieren und Musculus levator ani reifer intakter weiblicher Ratten

Die einmalige Behandlung mit der dimeren Substanz KL 310 führte in den Dosierungen von 5 bzw. 10 mg zu einer ständigen signifikaten Reduzierung des Ovargewichts, das 8 Wochen nach der Injektion ein Minimum von 50 % bzw. 30 % der Kontrollwerte erreichte ($p < 0,05$) (Abb. 5). Danach stieg das Gewicht der Ovarien wieder an.

Bei den Uteri zeigte sich nach einer vorübergehenden starken Zunahme nach zweiwöchiger Behandlungsdauer sowohl in der Dosierung von 5 mg als auch von 10 mg nach 4 Wochen eine signifikante Gewichtsreduzierung ($p < 0,05$) (Abb. 5).

Dagegen nahm das Gewicht der Hypophyse unter der Behandlung mit der dimeren Verbindung zu, wobei aber nur die Wirkung der 10 mg-Dosis während der ersten 4 Wochen signifikant war ($p < 0,05$) (Abb. 5).

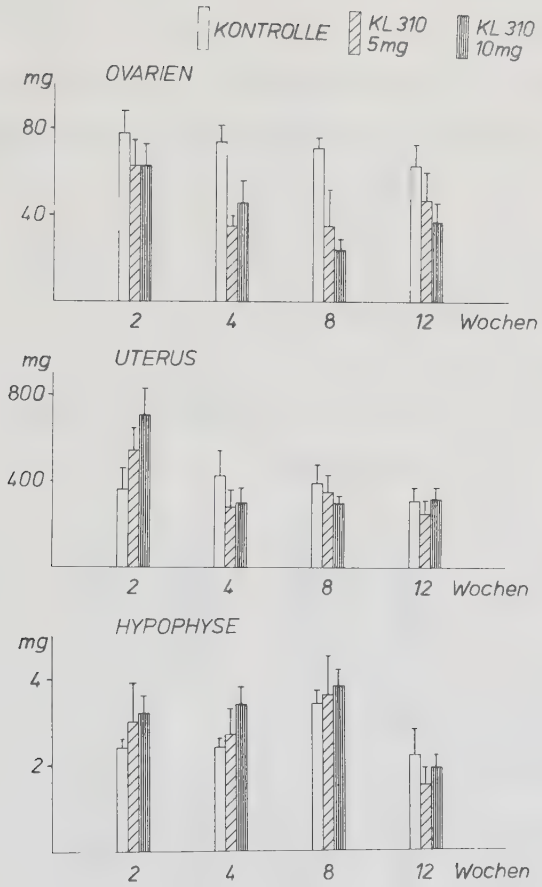


Abb. 5 Effekt einer einmaligen Injektion von 5 bzw. 10 mg KL 310 auf die Organgewichte von Ovarien, Uterus und Hypophyse von intakten reifen weiblichen Ratten (Mittelwerte ± SEM)

Mit Ausnahme einer signifikanten Gewichtsabnahme ($p < 0,05$) 2 Wochen nach Applikation von 10 mg KL 310 kam es für die Dauer des Versuchs zu keiner Veränderung bei den Nebennieren (Abb. 6).

Mit zunehmendem Alter der Ratten steigt das Gewicht des Musculus levator ani bei den Kontrolltieren an. Unter der Wirkung von KL 310 ist bei beiden Dosierungen ein schnelleres Wachstum des M. levator ani festzustellen, wobei aber das Endgewicht nach 8 bzw. 12 Wochen nicht erhöht ist (Abb. 6).

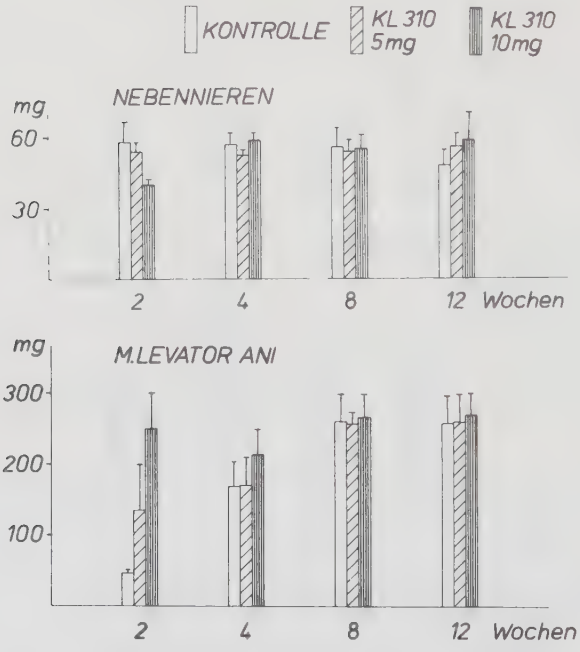


Abb. 6 Effekt einer einmaligen Injektion von 5 bzw. 10 mg KL 310 auf die Organgewichte von Nebennieren und Musculus levator ani intakter reifer weiblicher Ratten (Mittelwerte ± SEM)

3.2. Der anti-östrogene Effekt des dimeren Sexualsteroidesters in den Dosierungen von 5, 10, 20 bzw. 40 mg, von Norethisteronönanthat sowie Testosteronönanthat in den Dosierungen von jeweils 6 bzw. 12 mg auf die Vaginalzytologie reifer weiblicher kastrierter Ratten

Zur Untersuchung des anti-östrogenen Effekts des dimeren Testosteron-Gestagen-Esters erhielten ovarektomierte Ratten, die mit einem Depot-Östrogen vorbehandelt waren, verschiedene Dosen des Präparats sowie der Vergleichssubstanzen Norethisteronönanthat bzw. Testosteronönanthat einmalig injiziert.

Um den anti-östrogenen Effekt festzustellen, wurden täglich Vaginalabstriche durchgeführt. Dabei konnte anhand der Unterdrückung des Daueröstrus - der nach einmaliger Injektion des Depot-Östrogens Östradiolundecylat, bei vorausgegangener Kastration auftrat - die Depotwirkung der injizierten Substanzen durch Veränderung bzw. Nichtveränderung der Vaginalschleimhaut erkannt werden (Abb. 7). Den längsten anit-östrogenen Depoteffekt auf die Vaginalschleimhaut übte das Testosteronönanthat aus. Auf die Äquivalentdosierungen bezogen war der Depoteffekt des T-Ö mehr als doppelt so lang (41 bzw. 50 Tage) wie der des KL 310 (18 bzw. 22 Tage). Bei allen verwendeten Präparaten war die Zunahme des Depoteffektes dosisabhängig (Abb. 7).

Auffallend war, daß nach der Injektion von Östradiol-undecylat die Vaginalschleimhaut ödematös und die Vaginalabstriche schmerzhaft waren.

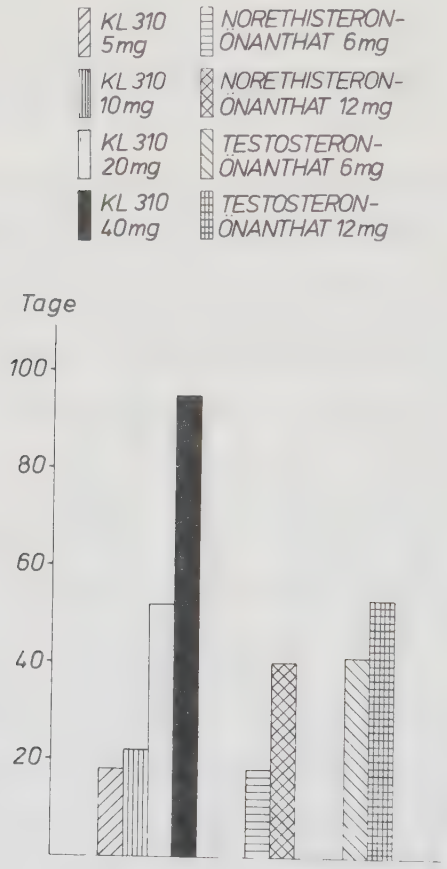


Abb. 7 Anti-östrogener Effekt einer einmaligen Injektion von KL 310 in den Dosierungen von 5, 10, 20 oder 40 mg, N-Ö bzw. T-Ö in den Dosierungen von jeweils 6 oder 12 mg auf die Vaginalschleimhaut reifer kastrierter weiblicher Ratten

3.3. Die dosisabhängige Wirkung des KL 310 auf die Organgewichte des rechten Ovars, Uterus, Nebennieren, Hypophyse und M.levator ani reifer weiblicher hemikastrierter Ratten, sowie auf die Morphologie des Uterus und rechten Ovars

Um die Wirkung steigender Dosen des Testosteron-Ethynodiol-Esters auf verschiedene Organe bei der unilateral ovariektomierten Ratte festzustellen, wurde den Tieren am Tag der Hemikastration 10 µg, 100 µg, 1, 5, 10 bzw. 20 mg der dimeren Substanz injiziert und das entnommene linke Ovar sofort gewogen. Alle Ratten wurden nach 14 Tagen getötet. Innerhalb von 14 Tagen steigt das Gewicht des verbliebenen rechten Ovars bei unbehandelten Tieren um ca. 70 % gegenüber dem entnommenen Ovar an (linkes Ovar 30 $\pm$ 7 mg, rechtes Ovar 53 $\pm$ 9 mg). Die kompensatorische Hypertrophie des verbleibenden rechten Ovars wird jedoch nach der Behandlung mit KL 310 mit steigender Dosierung bis zur Dosis von 5 mg zunehmend unterdrückt, und zwar von 53 $\pm$ 9 mg auf 37 $\pm$ 5 mg bzw. 33 $\pm$ 5 mg. Nach der Gabe höherer Dosen (10 bzw. 20 mg) nimmt das Gewicht wieder zu und erreicht bei 20 mg KL 310 den gleichen Wert wie bei der unbehandelten Kontrollgruppe (Abb. 8).

Dieser Wiederanstieg der Ovargewichte bei den Dosierungen 10 bzw. 20 mg ist vermutlich auf eine lokale Wirkung des KL 310 zurückzuführen.

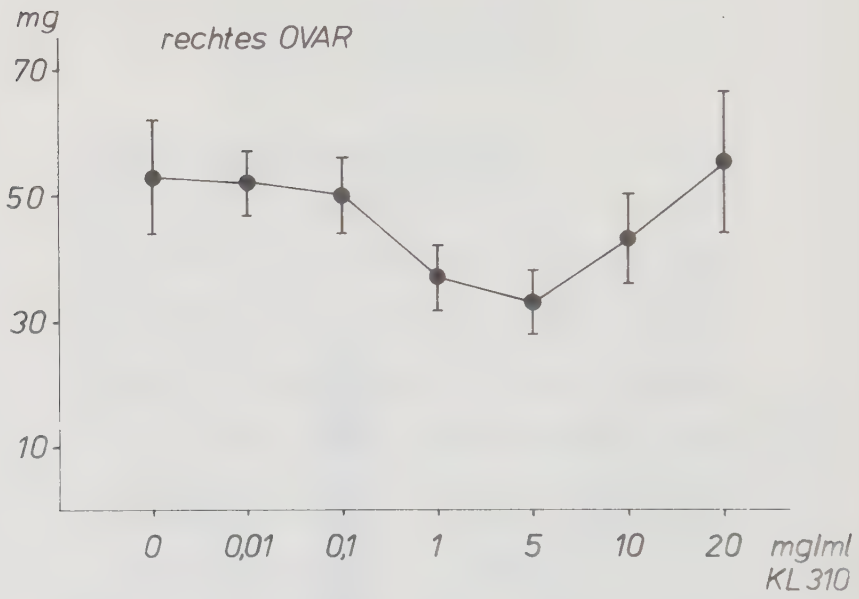


Abb. 8 Dosiswirkungskurve von KL 310 auf das Gewicht des rechten Ovars linksseitig ovariektomierter reifer weiblicher Ratten (Mittelwerte ± SEM)

Ausgehend von normalen Rattenovarien, die einen Durchmesser von 3 - 5 mm haben, zeigen sich bei den Dosierungen 1 bzw. 5 mg KL 310 verkleinerte Ovarien und gewichtsmäßig findet sich eine hoch signifikante Abnahme.

Die histologischen Schnitte zeigen bei den Kontrolltieren in der Rinde zahlreiche Eizellen, sowie Primär-, Sekundär- und Tertiärfollikel. Bei einem durch den Hilus gelegten Querschnitt finden sich 5 - 7 reife Graaf'sche Follikel. Das Follikelepithel ist 35 - 120 µm hoch. Die Eizellen des Cumulus oophorus sind groß, gleichmäßig rund mit hellen, angedeutet zart granuliertem Zytoplasma und großen zentral liegenden Nucleolen. Im normalen Ovar finden sich auf Querschnitten in Hilushöhe 10 - 14 Corpora lutea mit Durchmessern von 50 - 100 µm (Abb. 9).

Abb. 9 Histologischer Schnitt eines Rattenovars, unbehandeltes Kontrolltier (Vergrößerung 160fach)

Die Granulosaluteinzellen sind polygonal begrenzt mit eosinrotem, zart gekörntem Zytoplasma und großen, runden Kernen mit deutlichen Nucleolen (Abb. 10). Zwischen diesen Strukturen findet sich nur wenig Stroma und geringe Reste zugrundegegangener Follikel.

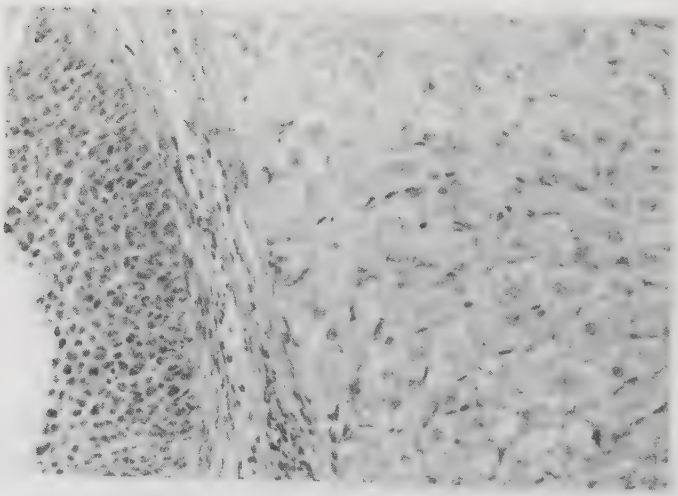


Abb. 10 Histologischer Schnitt eines Rattenovars, unbehandeltes Kontrolltier - Granulosaluteinzellen - (Vergrößerung 400 fach)

Die histologische Untersuchung der mit KL 310 in den Dosierungen 1 bzw. 5 mg behandelten Tiere ergab, daß die Anzahl der Corpora lutea vermindert und ihre Querschnitte verkleinert sind, dagegen sind die Follikel vermehrt (Abb. 11).

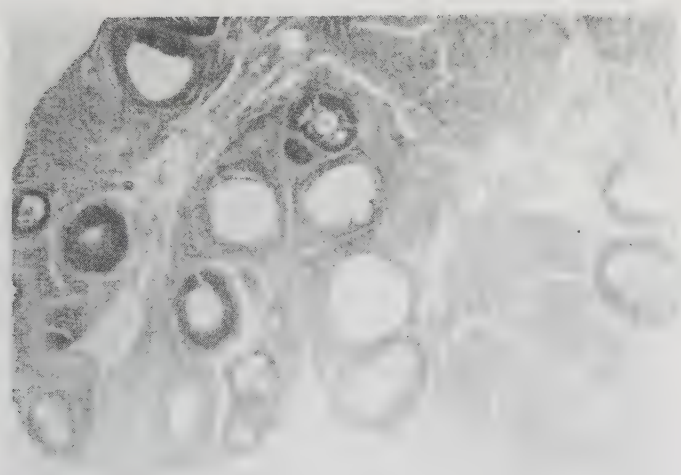


Abb. 11 Histologie eines Rattenovars nach einmaliger Injektion von 1 bzw. 5 mg KL 310, reifer hemikastrierter weiblicher Ratten. Abnahme der Corpora lutea, vermehrte Follikel.

Die Ova innerhalb der Follikel sind regressiv verändert und geschrumpft; sie besitzen ein dicht eosinrotes Zytoplasma. Das Follikelepithel zeigt nur teilweise normale Höhe. In vielen Follikeln ist es deutlich verschmälert (Abb. 12), die Kerne der Epithelien sind karyorrhektisch. Das ovarielle Stroma ist vermehrt mit reichlich nachweisbaren regressiv veränderten Follikelresten. Betonte perifollikuläre Fibrosen oder subcorticale Stromafibrosen der Ovarien sind jedoch nicht darstellbar.

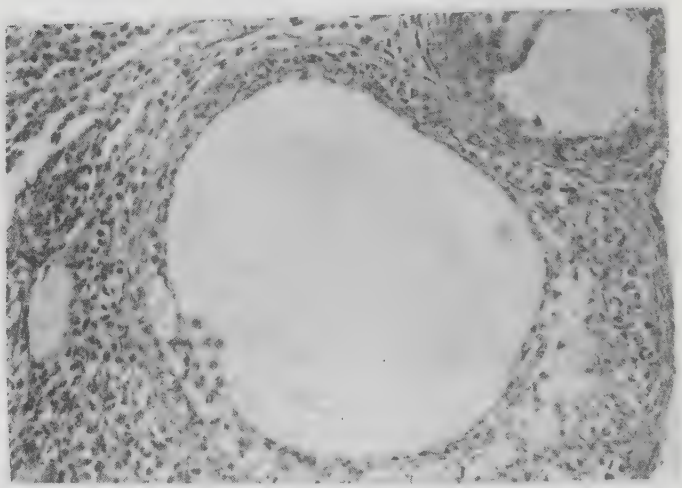


Abb. 12 Histologie eines Follikel nach einmaliger Injektion von 1 bzw. 5 mg KL 310, reifer hemikastrierter weiblicher Ratten. Verschmälertes Follikelepithel, regressiv veränderte und geschrumpfte Ova

Das histologische Bild nach Behandlung mit 10 mg KL 310 unterscheidet sich nicht von den Ovarien unbehandelter Tiere.

Bei der 20 mg-Dosis zeigen die Ovarien weitgehend normale Größen. Innerhalb der Ovarien hat sich das Verhältnis von Follikeln und Corpora lutea etwas zugunsten der Corpora lutea verschoben. Es finden sich 4 - 6 reife Follikel und 12 - 16 Corpora lutea pro Querschnitt. Die Corpora lutea sind stark vergrößert mit Durchmessern von 80 - 140 µm (Kontrollen 50 - 100 µm). Das ovarielle Stroma ist unauffällig.

Die Applikation von 1 bzw. 5 mg KL 310 verursacht eine Abnahme des Uterusgewichts von 317 ± 61 mg auf 231 ± 48 mg bzw. 242 ± 25 mg ($p < 0,05$), während die höheren Dosierungen von 10 mg bzw. 20 mg eine starke Zunahme des Uterusgewichts auf 518 ± 210 mg bzw. 610 ± 90 mg hervorriefen ($p < 0,05$) (Abb. 13).

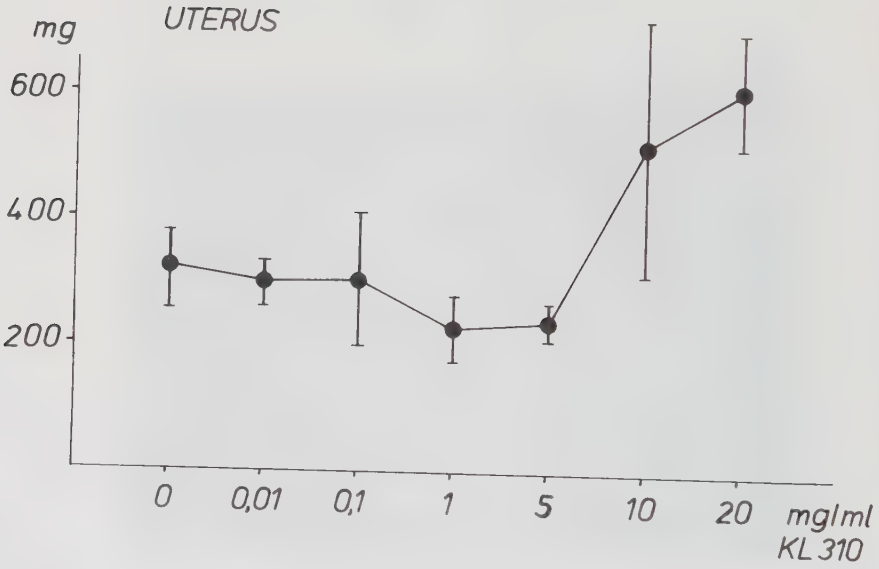


Abb. 13 Dosiswirkungskurve von KL 310 auf das Uterusgewicht reifer hemikastrierter weiblicher Ratten (Mittelwert ± SEM)

Ebenso wie bei den Ovarien sind auch bei den Uteri histologische Veränderungen gegenüber den Kontrolltieren zu sehen. Normale Rattenuteri haben eine mittlere Wandstärke von 0,8 - 1 mm. Das Endometrium ist durchschnittlich 35 - 70 µm hoch. Das Deckepithel ist prismatisch mit basalständigen Kernen (Abb. 14).

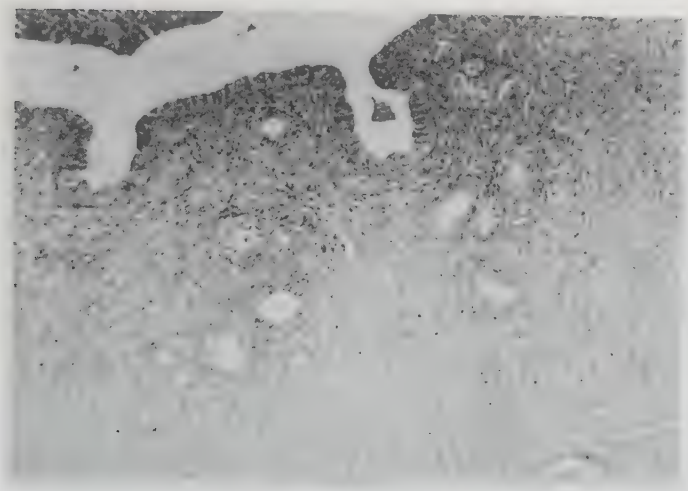


Abb. 14 Histologischer Schnitt eines Rattenuterus, unbehandeltes Kontrolltier (Vergrößerung 160fach)

Die Drüsen sind gleichmäßig verteilt, leicht geschlängelt mit engen Lumina, ausgekleidet von kubischen Epithelien mit hellem Zytoplasma und zentralliegenden Kernen (Abb. 15). Das Stroma besteht aus dicht gelagerten spindeligen bis ovalen Zellen mit sehr schmalem Zytoplasmasaum. Dazwischen befindet sich ein dichtes Maschenwerk argyrophiler und mäßig reichlich kollagener Fibrillen.

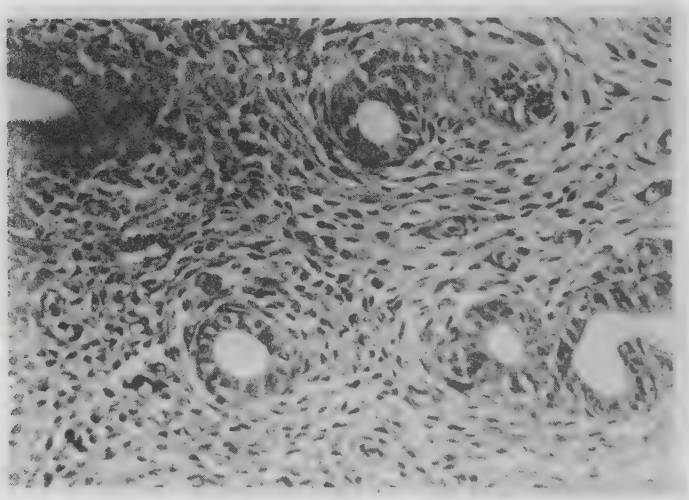


Abb. 15 Histologischer Schnitt eines Rattenuterus, unbehandeltes Kontrolltier - englumige Drüsen mit kubisch ausgekleideten Epithelien und zentralliegenden Kernen (Vergrößerung 400fach)

Bei den Tieren, die mit 1 bzw. 5 mg-Dosierungen KL 310 behandelt wurden, sind nicht nur die Ovarien, sondern auch die Uteri verkleinert. Es ist mikroskopisch eine Abnahme der Wandstärke (von 0,8 - 1 mm auf 0,4 - 0,6 mm) und der Endometriumhöhe (von 35 µm - 70 µm auf 15 - 40 µm) zu sehen. Das Endometrium enthält nur sehr spärlich verteilte ganz englumige Drüsen mit kubischen Epithelien (Abb. 16). Das Stroma enthält vermehrt kollagene Fasern.

Abb. 16 Histologie eines Rattenuterus nach einmaliger Injektion von 1 bzw. 5 mg KL 310, reifer hemikastrierter weiblicher Ratten. Abnahme der Wandstärke und der Endometriumshöhe.

Die Dosierung von 10 mg bewirkt eine Vergrößerung der Wanddicke auf 2 - 3 mm. Die Muskelzellen sind glatt und aufgehellt, die Muskularis ist vergrößert. Das Endometrium ist 30 - 70 µm hoch. Die stark aufgefaltete Oberfläche besitzt hochprismatische Epithelien mit großen, abgerundeten hellen Kernen, deren Nucleolen deutlich zu sehen sind. Die an die Oberfläche mündenden Drüsen sind erweitert und stark geschlängelt; ihre Epithelien sind gleichartig (Abb. 17). Gegenüber der Kontrollgruppe ist das Stroma zellreicher und faserärmer. In den lumennahen Abschnitten sind die Stromazellen zum Teil etwas vergrößert, abgerundet oder oval mit relativ breitem Zytoplasmasaum.

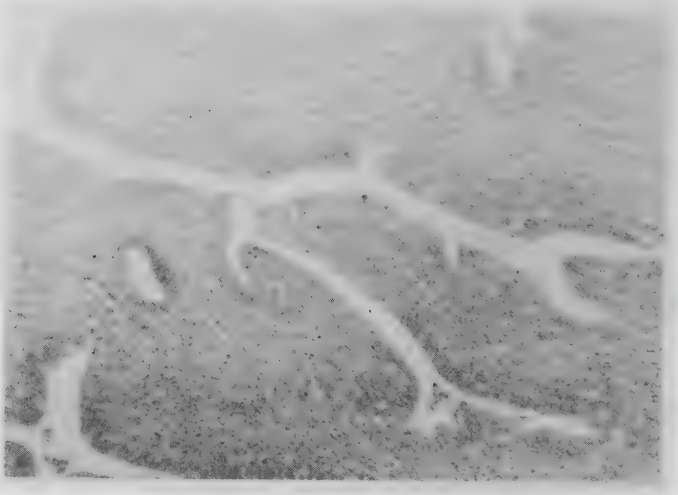


Abb. 17 Histologie eines Rattenuterus nach einmaliger Injektion von 10 mg KL 310, reifer hemikastrierter weiblicher Ratten. Erweiterte und stark geschlängelte Drüsen.

Die Vergrößerung der Uteri nimmt bei der 20 mg-Dosierung noch zu, während die Schwankungsbreite der Wandstärke mit der 10 mg-Dosierung übereinstimmt. Endometriumhöhe, Endometriumoberfläche und Drüsen zeigen die gleichen Veränderungen wie bei der Dosierung mit 10 mg. Ausgeprägtere Veränderungen sind an den Stromazellen sichtbar. Die unter dem Deckepithel umgewandelten Zellen sind prädecidual umgewandelt und besitzen ein stark verbreitertes, eosinrotes Zytoplasma (Abb. 18).

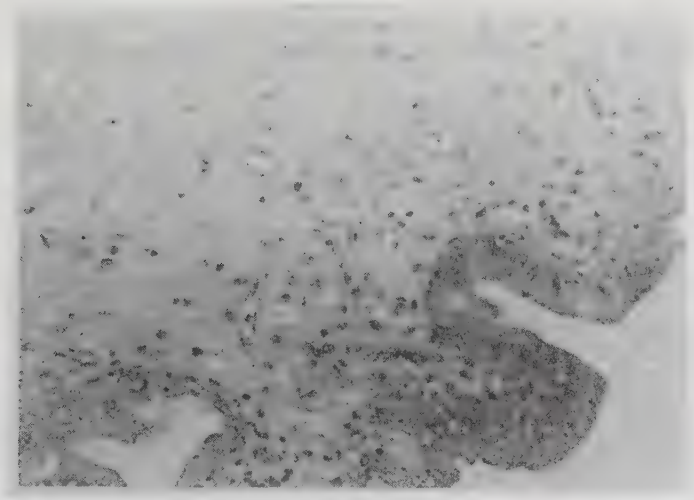


Abb. 18 Histologie eines Rattenuterus nach einmaliger Injektion von 20 mg KL 310, reifer hemikastrierter weiblicher Ratten. Prädecidual umgewandelte Stromazellen mit stark verbreitertem, eosinrotem Zytoplasma.

In den Dosierungen von 10 bzw. 100 µg lassen sich histologisch an den Ovarien und den Uteri keine sicheren Unterschiede im Vergleich zu den unbehandelten Kontrolltieren nachweisen.

Bei den Nebennieren sind bei allen Dosierungen keine wesentlichen Gewichtsveränderungen feststellbar (Tab. 1).

Die anabole Partialwirkung der Androgen-Gestagen-Verbindung wird beim M. levator ani erst bei einer Dosis von 10 und 20 mg signifikant merkbar (Tab. 1).

Von einem gegenüber der Kontrollgruppe ausgehenden erniedrigtem Wert nach der Behandlung mit 10 µg KL 310 nehmen die Hypophysengewichte mit steigender Dosierung kontinuierlich zu. Dieser Anstieg ist aber nur bei der Dosis von 20 mg KL 310 signifikant (Tab. 1).

Gruppe	Hypophyse (mg)	Nebennieren (mg)	M.levator ani (mg)
	$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$
Kontrolle (Arachisöl)	13,2 ± 1,6	56 ± 3,0	213 ± 21
KL 310 10 µg	10,5 ± 0,8	51 ± 1,1	229 ± 28
KL 310 100 µg	11,7 ± 1,3	56 ± 4,0	244 ± 35
KL 310 1 mg	11,2 ± 1,8	50 ± 2,0	223 ± 15
KL 310 5 mg	12,7 ± 2,2	56 ± 0	227 ± 19
KL 310 10 mg	15,o ± 1,5	53 ± 2,0	285 ± 17
KL 310 20 mg	18,0 ± 2,7	53 ± 3,0	264 ± 21

Tab. 1

Die Wirkung steigender Dosen des Testosteron-Ethynodiol-Esters auf die Organgewichte von Nebennieren, M.levator ani und Hypophyse bei der unilateral ovariektomierten Ratte.

3.3.1. Die dosisabhänige Wirkung des dimeren Sexualsteroidesters auf den LH-Serumspiegel reifer weiblicher hemikastrierter Ratten

Wie aus Abb. 19 ersichtlich ist, führte die Injektion von steigenden Mengen der dimeren Verbindung KL 310 zu einer zunehmenden Unterdrückung des Ratten-LH-Serumspiegels, die jedoch - aufgrund der hohen Schwankungen vor allem bei den Kontrolltieren - erst bei den Dosierungen von 10 bzw. 20 mg signifikant wurde.

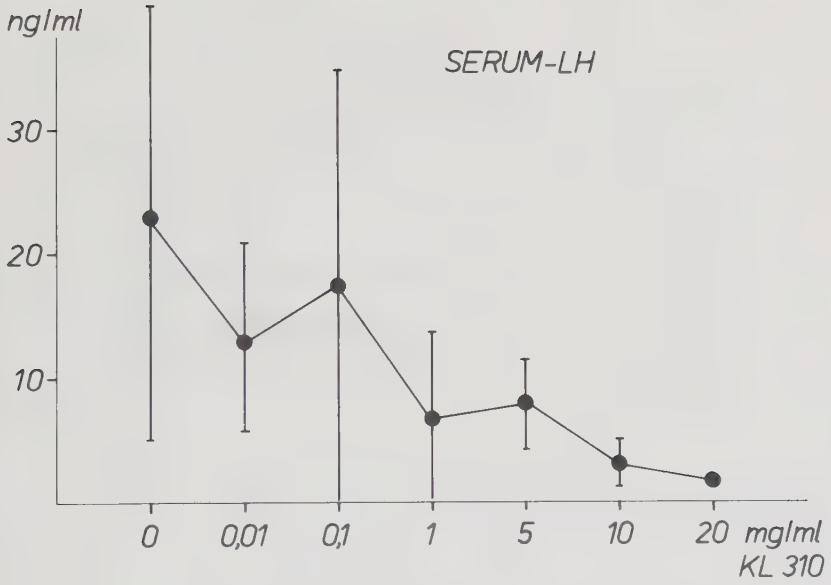


Abb. 19 Dosiswirkungskurve einer einmaligen Injektion von KL 310 in steigender Menge auf den LH-Serumspiegel reifer, hemikastrierter weiblicher Ratten (Mittelwerte ± SEM)

3.3.2. Die dosisabhänige Wirkung des dimeren Sexualsteroidesters auf den Östradiol-Serumspiegel reifer weiblicher hemikastrierter Ratten

Aus Abb. 20 geht hervor, daß alle Dosierungen des KL 310 mit Ausnahme der 20 mg-Dosis eine Abnahme des Östradiolserumspiegels bewirken, während bei der 20 mg-Dosierung eine leichte Zunahme gegenüber der Kontrollgruppe festzustellen ist (auch bei der Gewichtsentwicklung des Ovars und des Uterus sind bei dieser Dosierung jeweils die größten Gewichte erreicht worden). Auch hier sind wegen der großen Standardabweichung der Kontrollgruppe die Unterschiede nicht signifikant.

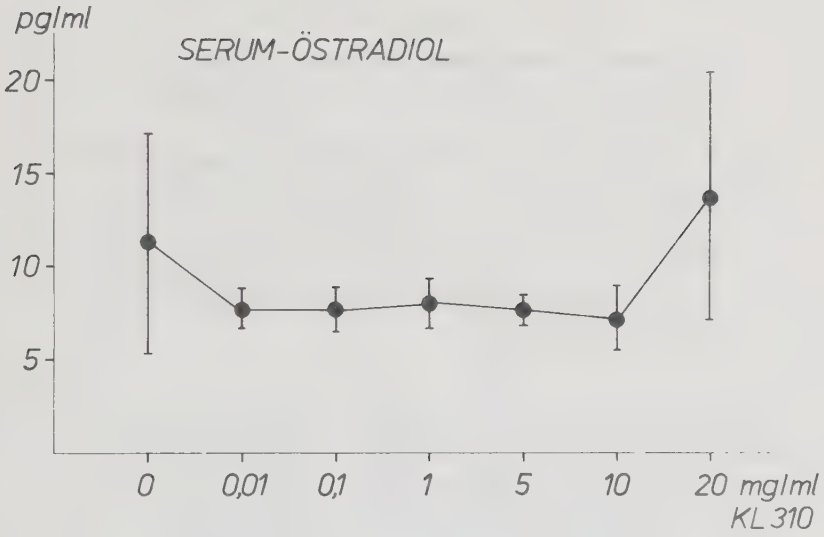


Abb. 20 Dosiswirkungskurve einer einmaligen Injektion von KL 310 in steigender Menge auf den Serum-Östradiolspiegel reifer, hemikastrierter weiblicher Ratten (Mittelwerte ± SEM)

3.4. Die Wirkung des dimeren Sexualsteroidesters in den Dosierungen von 10 bzw. 20 mg sowie von Testosteronönanthat + Norethisteronönanthat in den Dosierungen von je 6 bzw. 12 mg auf die Organgewichte von Ovarien, Uterus und Hypophyse reifer intakter weiblicher Ratten, sowie auf die Morphologie des Uterus und der Ovarien

An den Ovarien sind nach einwöchiger Behandlung mit den Substanzen KL 310 sowie T-Ö + N-Ö keine sicheren histologischen Unterschiede erkennbar. Es sind auch keine wesentlichen Gewichtsveränderungen aufgetreten.

Auffallend ist die signifikante Gewichtszunahme nach zweiwöchiger Versuchsdauer mit 6 mg T-Ö/ 6 mg N-Ö sowie 12 mg T-Ö/12 mg N-Ö (Abb. 21), ohne daß dabei wesentliche histologische Veränderungen festgestellt werden konnten. Die Ovarien besitzen eine normale Größe und enthalten normal gestaltete Follikel in unveränderter Anzahl. Die Corpora lutea weisen jedoch eine deutliche Vergrößerung ihrer Durchmesser von 50 - 100 µm auf 90 - 170 µm auf, mit unauffälligem Stroma.

Bei der Applikation von 10 bzw. 20 mg KL 310 verändern sich die Gewichte der Ovarien nach zweiwöchiger Versuchsdauer nicht signifikant (Abb. 21).

Die Histologie zeigt zu diesem Zeitpunkt ein regelgerechtes Ausreifen der Graaf'schen Follikel. Die Corpora lutea sind, besonders bei der Dosierung mit 20 mg gegenüber unbehandelten Kontrolltieren deutlich vergrößert (Durchmesser von 120 - 170 µm). Das ovarielle Stroma ist unauffällig.

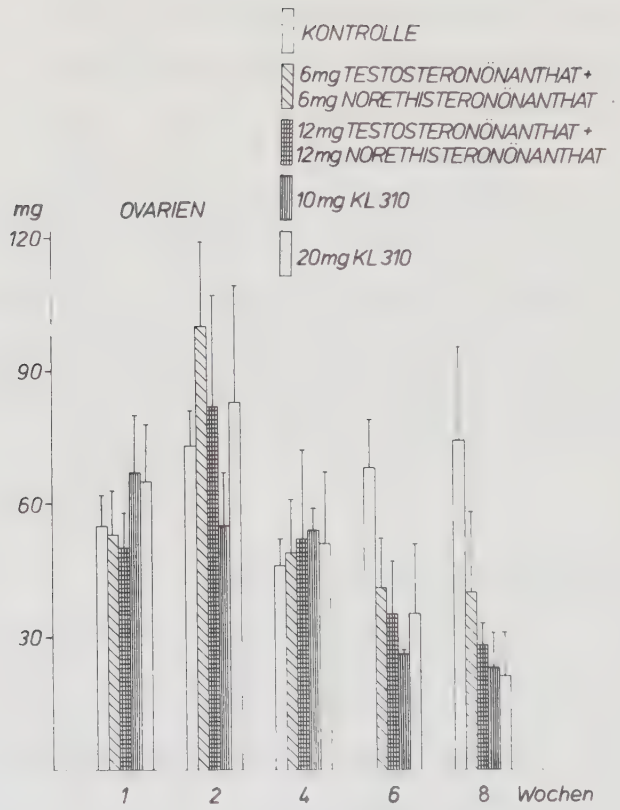


Abb. 21 Effekt einer einmaligen Injektion von 10 bzw. 20 mg KL 310 sowie von 6 mg/6 mg bzw. 12 mg/12 mg T-Ö + N-Ö auf die Ovargewichte reifer intakter weiblicher Ratten (Mittelwerte ± SEM)

Erstmals nach 6 Wochen ist bei Verabreichung von T-Ö + N-Ö (6 bzw. 12 mg) eine, wenn auch nicht so stark ausgeprägte Suppression der Ovariengewichte erkennbar, die nach 8 Wochen signifikant ($p < 0,05$) wird (Abb. 21). Beide T-Ö + N-Ö-Dosierungen (6 mg/6 mg sowie 12 mg/12 mg) bewirken in dem Zeitraum zwischen 4 und 8 Wochen nach der Injektion gleichartige morphologische Veränderungen, die vor allem in der 8. Woche stark ausgeprägt sind. Zu diesem Zeitpunkt tritt eine deutliche Verkleinerung der Ovarien mit Durchmessern von 2 - 3,5 mm auf, die mit einer zunehmenden Verkleinerung und Reduzierung der Corpora lutea einhergeht. Nach 8 Wochen sind praktisch keine Corpora lutea mehr nachweisbar. Die Epithelien der zugrunde gehenden Corpora lutea erscheinen umgestaltet; zahlreiche große Fettvakuolen durchsetzen das Zytoplasma (Abb. 22.)

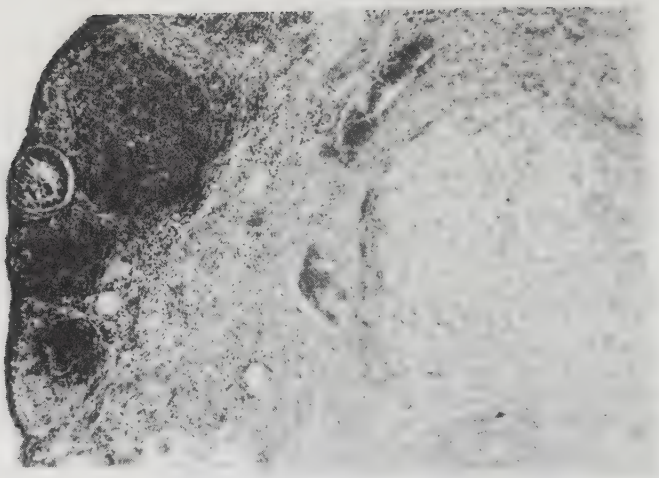


Abb. 22 Histologie eines Rattenovars nach einmaliger Injektion von 6 mg/6 mg bzw. 12/12 mg T-Ö + N-Ö reifer intakter weiblicher Ratten. Mit zahlreichen großen Fettvakuolen durchsetztes Zytoplasma

Die Graaf'schen Follikel zeigen bis zur 6. Woche noch eine regelrechte Ausreifung. Danach wird das Follikelepithel zunehmend regressiv verändert. Die Zellen sind balloniert, vakuolisiert und haben pyknotische Kerne. Sich ausbildende kleine Zysten werden nur noch partiell von regelrechten Follikelepithelien ausgekleidet. Ihr Durchmesser beträgt 30 - 40 µm (Abb. 23). Das ovarielle Stroma ist deutlich vermehrt, zellreich und sehr dicht. Eine wesentliche Vermehrung kollagener Fasern ist jedoch nicht zu beobachten. In der Rinde finden sich unregelmäßig verteilte Eizellen. Primordialfollikel werden nur noch spärlich ausgebildet.

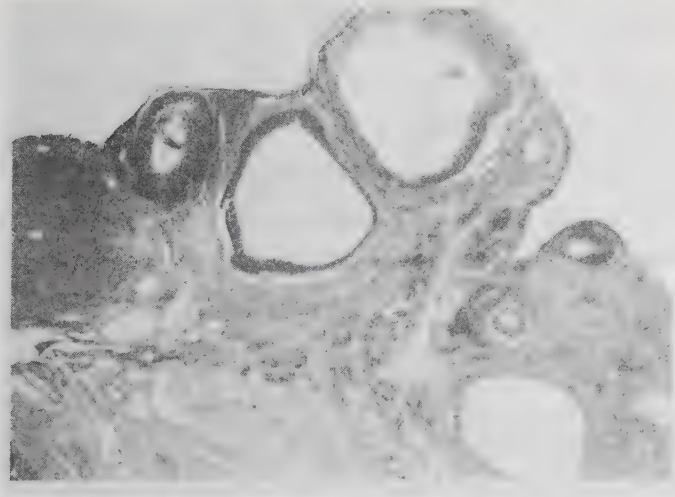


Abb. 23 Histologie eines Rattenovars nach einmaliger Injektion von 6 mg/6mg bzw. 12/12 mg T-Ö + N-Ö reifer intakter weiblicher Ratten. Kleine Zysten, nur noch partiell von regelrechten Follikelepithelien ausgekleidet.

Die Ovarien weisen 4 Wochen nach der Injektion mit 10 bzw. 20 mg KL 310 keine signifikanten Gewichtsänderungen auf, während nach 6 und 8 wöchiger Versuchsdauer eine hoch signifikante Gewichtsabnahme auftritt (Abb. 21). Nach 4 - 8 Wochen zeigen sich histologisch zunehmend stärker werdende Veränderungen an den Ovarien, wobei das Maximum der Veränderungen in der 8. Woche liegt; die Ovarien werden deutlich kleiner und fibrosiert. Zu dieser Zeit kommt es zu einer sehr starken Reduktion der Corpora lutea; es finden sich pro Querschnitt nur noch 0 - 4 Stück. Der Durchmesser reduziert sich auf 20 - 50 µm. Die Lutealzellen enthalten großvakuoläre Fetttropfen. Die Graaf'schen Follikel reifen nicht mehr regelrecht aus. Einige Zellen des Follikelepithels sind vakuolär degeneriert und enthalten zahlreiche pyknotische Kerne. Sich ausbildende kleine Zysten mit Durchmessern von 30 - 40 µm werden nur noch partiell von regelrechten Follikelepithelien ausgekleidet. In der Rinde treten kleine Knötchen zytoplasmaarmer, dunkelkerniger Follikelepithelien auf, die regelrechte Ausreifung erscheint jedoch behindert.

Während das T-Ö + N-Ö (6 mg/6mg bzw. 12 mg/12 mg) und KL 310 (10 bzw. 20 mg) nach einwöchiger Wirkungsdauer zu einer signifikanten Gewichtszunahme der Uterie führen (Abb. 24), sind histologisch keine sicheren Unterschiede erkennbar.

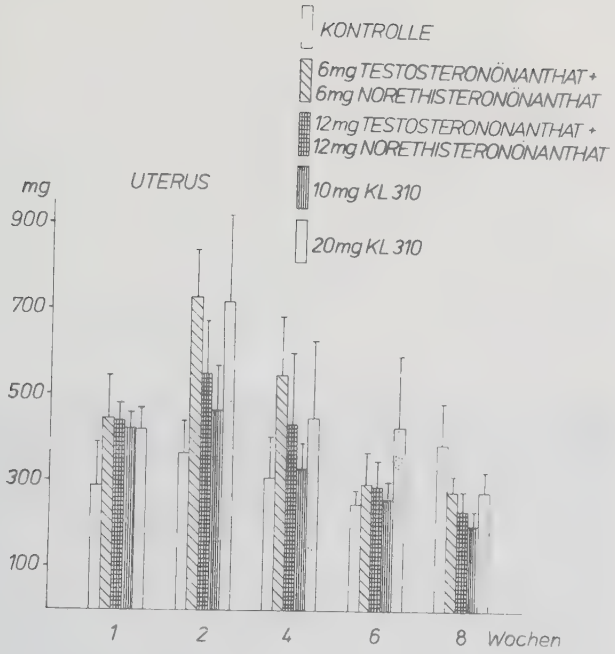


Abb. 24 Effekt einer einmaligen Injektion von 10 bzw. 20 mg KL 310 sowie von 6 mg/6 mg bzw. 12 mg/12 mg T-Ö + N-Ö auf das Uterusgewicht reifer intakter weiblicher Ratten (Mittelwerte ± SEM)

Nach zweiwöchiger Versuchsdauer vergrößert die Dosis von je 6 mg T-Ö + N-Ö den Uterus stärker als die Injektion der doppelten Menge (Abb. 24). Histologische Unterschiede zeigen sich jedoch kaum. Die Uteruswand ist wesentlich stärker (2 - 3 mm), das Endometrium deutlich erhöht (60 - 140 µm). Die aufgefaltete Oberfläche besteht aus einem hochprismatischen Deckepithel, dessen Zytoplasma hell und dessen Kerne vergrößert sind. Stark erweiterte Drüsen, deren Epithel ebenfalls hochprismatisch ist, münden an die Oberfläche (Abb. 25).

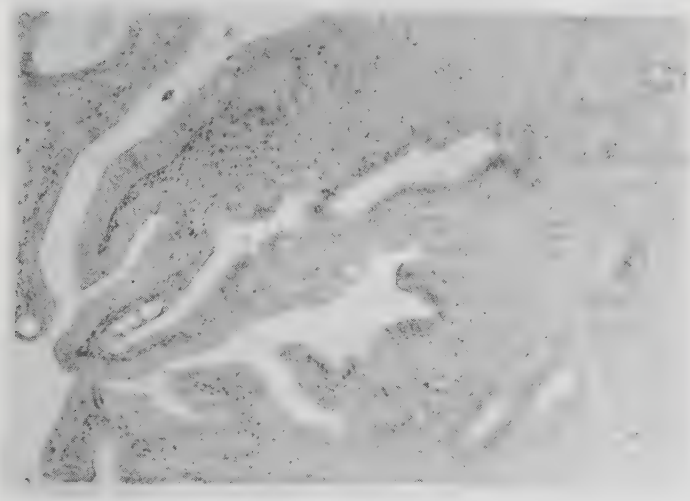


Abb. 25 Histologie eines Rattenuterus nach einmaliger Injektion von 6 mg/6 mg bzw. 12 mg/12 mg T-Ö + N-Ö reifer intakter weiblicher Ratten nach zweiwöchiger Versuchsdauer. An die Oberfläche mündende, stark erweiterte Drüsen.

Im Deckepithel finden sich intrazytoplasmatisch und zum Teil auch von mehreren Epithelien begrenzt, kleine lichtoptisch leere Vakuolen und Zysten. Das Stroma ist zell- und faserreich. Prädezidual umgewandelte Stromazellen liegen als schmale Zonen unter dem Deckepithel.

Nach zweiwöchiger Wirkungsdauer des KL 310 (10 bzw. 20 mg) sind die Uteri leicht vergrößert, auffallend ist aber, daß bei der Dosierung von 20 mg eine hoch signifikante Gewichtszunahme stattfindet (Abb. 24). Das Endometrium ist 50 - 90 µm hoch. Die aufgelockerte Muskulatur besitzt deutlich vergrößerte glatte Muskelzellen. Das auskleidende Deckepithel ist hochprismatisch und zeigt intrazytoplasmatisch zahlreiche optisch leere Vakuolen sowie kleine interzelluläre Zysten (Abb. 26).

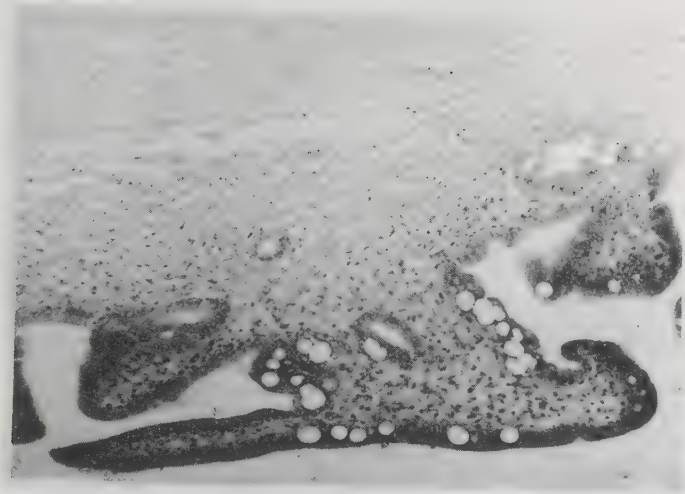


Abb. 26 Histologie eines Rattenuterus nach einmaliger Injektion von 10 bzw. 20 mg KL 310 reifer intakter weiblicher Ratten nach zweiwöchiger Versuchsdauer. Hochprismatisches Deckepithel mit intrazytoplasmatisch zahlreichen optisch leeren Vakuolen sowie interzellulären kleinen Zysten

Die mäßig aufgefaltete Oberfläche mit ihren stark erweiterten und geschlängelten Drüsen besteht aus teils hochprismatischen, teils flachen kubischen Epithelien. In den Drüsenlumina befindet sich ein eosinrotes, zart gekörntes Material. Die Drüsen zeigen zum Teil eine kleinzystische Abrundung. Das Stroma ist teils unauffällig, teils etwas faserreich. Prädezidual umgewandelte Stromazellen bilden in den lumennahen Abschnitten eine schmale Zone.

Das Uterusgewicht der mit T-Ö + N-Ö (6 mg/6 mg bzw. 12 mg/12 mg) behandelten Tiere nimmt im Zeitraum von 4 - 8 Wochen stetig ab (Abb. 24). Die Wandstärke der Uteri wird kontinuierlich schwächer, wobei sie in der 8. Woche nur noch 0,4 - 0,8 mm beträgt. Das Endometrium ist 25 - 35 µm hoch. Das abschnittsweise mehrreihig werdende Deckepithel bleibt hochprismatisch. In der 4. und 6. Woche bilden sich im Deckepithel kleine Plattenepithelinseln (Abb. 27), die nach 8 Wochen nicht mehr nachweisbar sind. Das an kollagenen Fasern reiche Stroma enthält spärlich atrophische Drüsen.

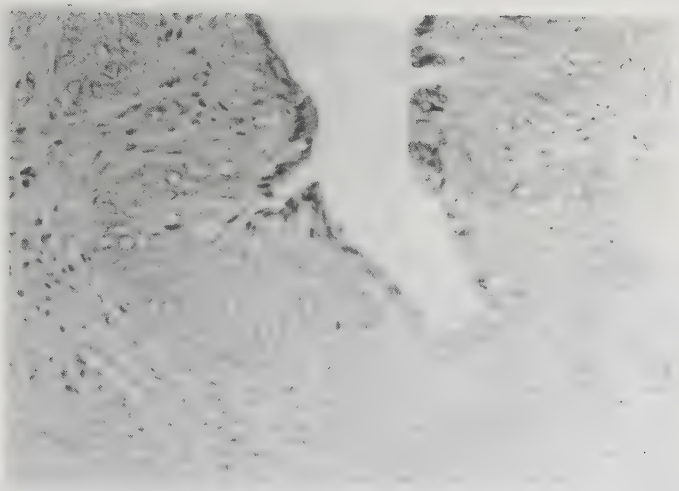


Abb. 27 Histologie eines Rattenuterus nach einmaliger Injektion von 6 mg/6 mg bzw. 12 mg/12 mg T-Ö + N-Ö reifer intakter weiblicher Ratten nach vier- bzw. sechswöchiger Versuchsdauer. Kleine Plattenepithelinseln im Deckepithel.

Die Uterusgewichte nehmen im Zeitverlauf bei der 10 mg-Dosierung KL 310 kontinuierlich ab, damit übereinstimmend werden bis zur 8. Woche die Wandstärken deutlich geringer. Die Endometriumshöhe sinkt auf 20 - 35 µm ab. Die innere Auskleidung des Uterus ist glatt. Das Stroma ist faserreich, die Drüsen atrophisch (Abb. 28).

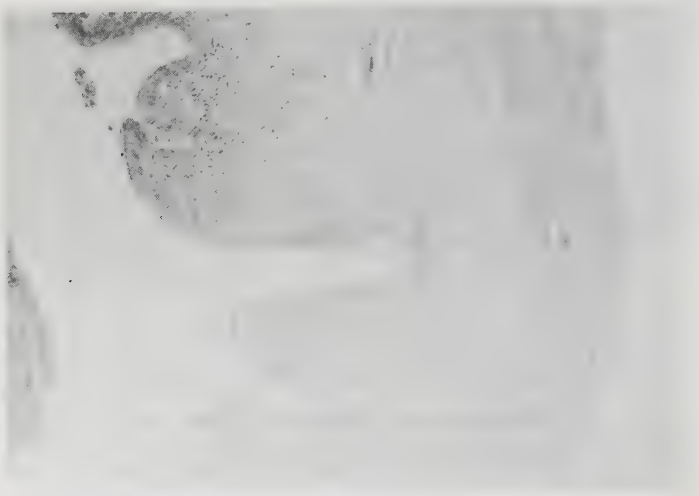


Abb. 28 Histologie eines Rattenuterus nach einmaliger Injektion von 10 mg KL 310 reifer intakter weiblicher Ratten nach achtwöchiger Versuchsdauer. Faserreiches Stroma, atrophische Drüsen.

Die 20 mg-Dosierung bewirkt keine so starke Gewichtsreduzierung wie die anderen Dosierungen, ebenso verhalten sich die Uterusgrößen. Die Wandstärken liegen im Normalbereich. Das Endometrium nimmt bis zur 8. Woche etwas an Höhe zu und entwickelt eine leicht aufgefaltete Oberfläche. Das faserreich werdende Stroma enthält nur noch wenige, allerdings weiterhin zystisch ausgeweitete Drüsen. Kleine Herde von Plattenepithelien liegen im Oberflächenepithel.

Das Hypophysengewicht wird sowohl durch T-Ö + N-Ö als auch durch KL 310 nach 1, 2 und 4 Wochen signifikant gesteigert, wobei das Maximum im allgemeinen 2 Wochen nach der Behandlung auftritt. Danach geht der wachstumstimulierende Effekt wieder zurück. Nach 8 Wochen ist dann sogar eine Reduktion des Hypophysengewichts, mit Ausnahme der höheren Dosis KL 310, gegenüber den unbehandelten Tieren festzustellen (Abb. 29).

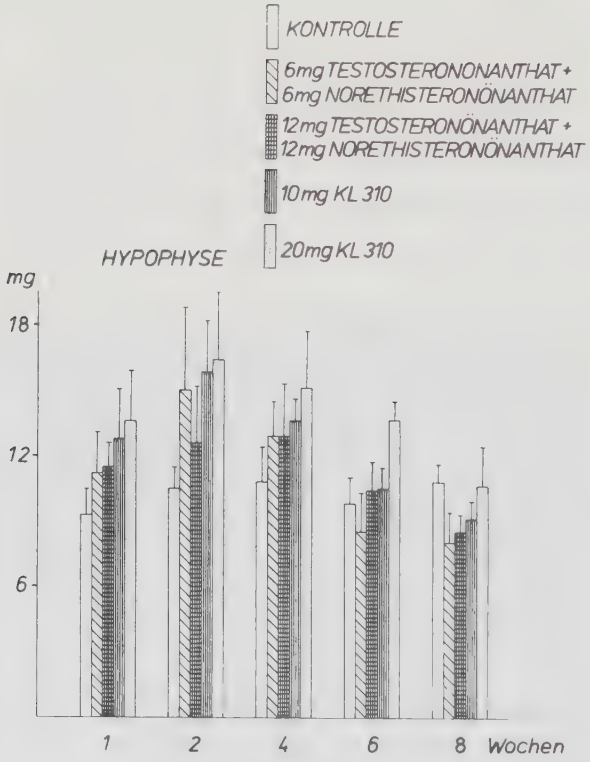


Abb. 29 Effekt einer einmaligen Injektion von 10 bzw. 20 mg KL 310 sowie von 6 mg/ 6 mg bzw. 12 mg/12 mg T-Ö + N-Ö auf das Hypophysengewicht reifer intakter weiblicher Ratten (Mittelwerte ± SEM)

3.4.1. Die Wirkung des dimeren Sexualsteroidesters in den Dosierungen von 10 bzw. 20 mg sowie von T-Ö + N-Ö in den Dosierungen von je 6 bzw. 12 mg auf den LH-Serumspiegel reifer weiblicher Ratten

Aus Abb. 30 ist ersichtlich, daß T-Ö + N-Ö in beiden Dosierungen den Ratten-LH-Serumspiegel bis zu einer Versuchsdauer von 4 Wochen hoch signifikant unterdrücken. Danach steigt das Serum-LH wieder an.

Dagegen hält bei beiden KL 310-Dosierungen die Suppression der LH-Freisetzung über die gesamte Versuchsdauer von 8 Wochen an (Abb. 30).

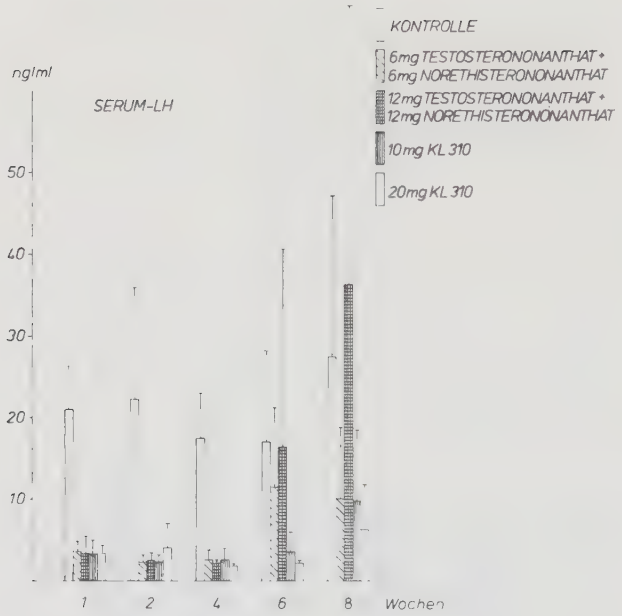


Abb. 30 Effekt einer einmaligen Injektion von 10 bzw. 20 mg KL 310 sowie von 6 mg/ 6 mg bzw. 12 mg/12 mg T-Ö + N-Ö auf den LH-Serumspiegel reifer intakter weiblicher Ratten (Mittelwerte ± SEM)

3.4.2. Die Wirkung des dimeren Sexualsteroidesters in den Dosierungen von 10 bzw. 20 mg sowie von T-Ö + N-Ö in den Dosierungen von je 6 bzw. 12 mg auf den Testosteronserumspiegel reifer weiblicher Ratten

Nach einem anfänglich starken Anstieg des Testosteronserumspiegels bei den Dosierungen 6 mg/6 mg bzw. 12 mg/12 mg T-Ö + N-Ö erfolgt eine relativ rasche Abnahme, so daß nach 4 Wochen kein signifikanter Unterschied zu der Kontrolle vorhanden ist.

KL 310 zeigt bei beiden Dosierungen einen weitaus flacheren und gleichmäßigeren Kurvenverlauf als nach der Behandlung mit T-Ö + N-Ö, wie in Abb. 31 zu sehen ist. Bei der Dosis von 20 mg ist auch noch nach 8 Wochen das Serumtestosteron signifikant ($p < 0,05$) erhöht.

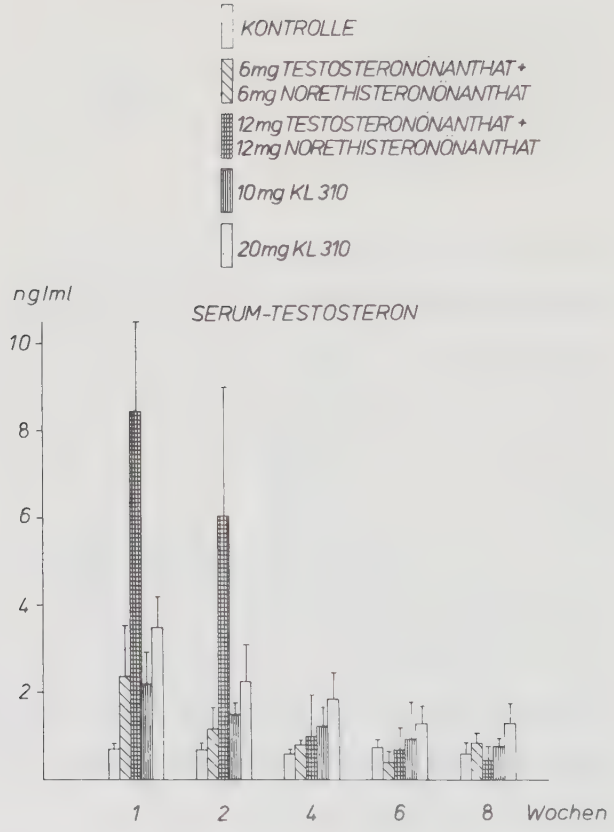


Abb. 31 Effekt einer einmaligen Injektion von 10 bzw. 20 mg KL 310 sowie von 6 mg/6 mg bzw. 12 mg/12 mg T-Ö + N-Ö auf den Testosteronserumspiegel reifer intakter weiblicher Ratten (Mittelwerte ± SEM)

3.4.3. Die Wirkung des dimeren Sexualsteroidesters in den Dosierungen von 10 bzw. 20 mg sowie von T-Ö + N-Ö in den Dosierungen von je 6 bzw. 12 mg auf den Östradiolserumspiegel reifer weiblicher Ratten

Ähnlich wie bei dem Testosteronserumspiegel ist auch nach der Injektion sowohl von 6 mg/6 mg als auch 12 mg/12 mg T-Ö + N-Ö ein signifikanter Anstieg des Serumöstradiols während der ersten beiden Wochen zu sehen, der möglicherweise durch periphere Umwandlung des Testosterons zustande kommt. Von der 4. Woche an unterschiedet sich das Serumöstradiol nicht mehr von dem der Kontrollgruppe. Wie aus Abb. 32 zu sehen ist, bewirkte KL 310 nur in der ersten Woche einen signifikanten ($p < 0,05$) Anstieg des Östradiols.

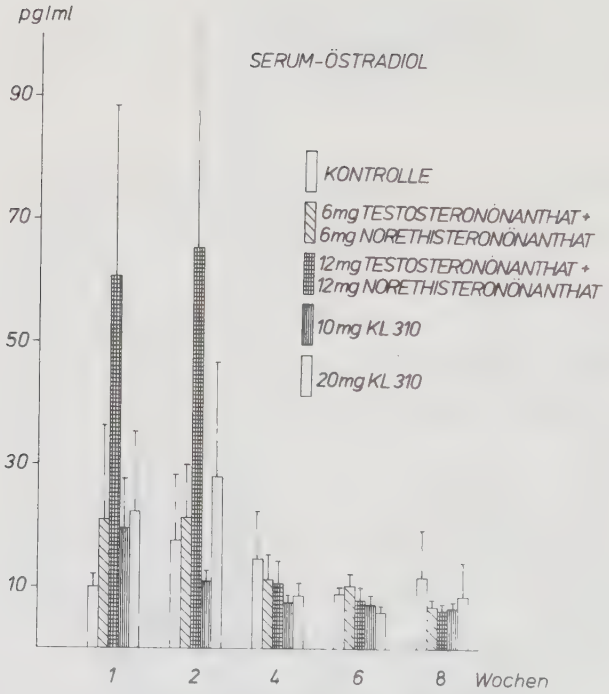


Abb. 32 Effekt einer einmaligen Injektion von 10 bzw. 20 mg KL 310 sowie von 6 mg/ 6 mg bzw. 12 mg/12 mg T-Ö + N-Ö auf den Östradiolserumspiegel reifer intakter weiblicher Ratten (Mittelwerte ± SEM)

3.5. Die Wirkungen des dimeren Sexualsteroidesters in den Dosierungen von 2, 5 bzw. 10 mg, von Testosteron-önanthat sowie Norethisteronönanthat in den Dosierungen von jeweils 6 mg auf die Organgewichte von Ovarien, Uterus, Hypophyse und Nebennieren neugeborener weiblicher Ratten

Neugeborenen weiblichen Ratten wurde KL 310 in den Dosierungen 2, 5 bzw. 10 mg, sowie T-Ö 6 mg oder N-Ö 6 mg am 1. und 2. Lebenstag subcutan injiziert, um den Einfluß dieser Substanzen während der neonatalen Phase und deren Auswirkungen auf den Uterus, das Ovar, die Hypophyse und die Nebbennieren festzustellen.

Vaginalabstriche waren nur bei der Kontrollgruppe ab dem 38. Lebenstag möglich. Bei den übrigen Versuchsgruppen blieben die Vaginae geschlossen.

Im Alter von 60 Lebenstagen wurden alle Ratten dekapitiert.

Mit zunehmender Dosierung des KL 310 ist eine signifikante Gewichtsabnahme der Uteri festzustellen. Gegenüber der Kontrollgruppe wirktdas T-Ö fast gleich stark hemmend auf das Uteruswachstum wie die 2 mg-Dosis KL 310.

N-Ö wirkt von allen injizierten Präparaten am wenigsten hemmend auf das Wachstum des Uterus.

2 Monate nach der Behandlung neonataler Ratten mit KL 310 sind die Ovargewichte und Uteri signifikant ($p < 0,05$) erniedrigt (Tab. 2).

Während bei den Uteri T-Ö stärker wachstumshemmend wirkt als N-Ö, führt N-Ö bei den Ovarien zu einer etwas stärkeren Gewichtsreduzierung.

Die KL 310-Dosierungen verursachen bei den Hypophysengewichten gegenüber der Kontrollgruppe keine signifikanten Abweichungen. Sowohl bei T-Ö als auch bei N-Ö fällt die Stimulierung des Hypophysenwachstums auf.

Durch alle Präparate werden die Nebennierengewichte gesteigert, signifikant jedoch nur durch Norethisteron-önanthat.

Gruppe	Ovar (mg)	Uterus (mg)	Hypophyse (mg)	Nebennieren (mg)
	$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$
Kontrolle	40 ± 19	297 ± 64	9,3 ± 1,9	47 ± 7
KL 310 2 mg	22 ± 5	216 ± 64	9,9 ± 1,9	54 ± 7
KL 310 5 mg	17 ± 5	198 ± 78	8,4 ± 1,6	52 ± 6
KL 310 10 mg	16 ± 3	191 ± 33	9,7 ± 0,6	50 ± 7
T-Ö 6 mg	33 ± 3	222 ± 40	12,5 ± 1,8	55 ± 6
N-Ö 6 mg	31 ± 3	267 ± 98	12,1 ± 1,5	63 ± 4

Tab. 2

Die Wirkung einer am 1. und 2. Lebenstag erfolgten Injektion von 2, 5 bzw. 10 mg KL 310, sowie 6 mg T-Ö bzw. 6 mg N-Ö auf die Organgewichte von Ovarien, Uterus, Hypophyse und Nebennieren neugeborener weiblicher Ratten

3.6. Die Wirkungen von Mesterolon, Norethisteron sowie Testosteron in den Dosierungen von 0,3 mg bzw. 2 mg auf die Organgewichte des Uterus und der Ovarien reifer intakter weiblicher Ratten

Um zu überprüfen, ob die Wirkung des Testosterons bzw. Norethisterons auf Uterus und Ovar von einer möglichen Aromatisierung des Steroids beeinflußt wird, wurde reifen intakten Ratten Mesterolon, Norethisteron und Testosteron subcutan in den Dosierungen von jeweils 0,3 mg bzw. 2 mg 2 Wochen lang täglich injiziert.

Bei der Dosierung von 0,3 mg zeigte sich bei allen Substanzen gegenüber der Kontrollgruppe eine signifikante Reduzierung der Uterusgewichte (Abb. 33).

In der 2 mg-Dosierung bewirkte Testosteron eine signifikante ($p < 0,05$) Zunahme des Uterusgewichts, während Mesterolon und Norethisteron keine wesentlichen Gewichtsveränderungen verursachten.

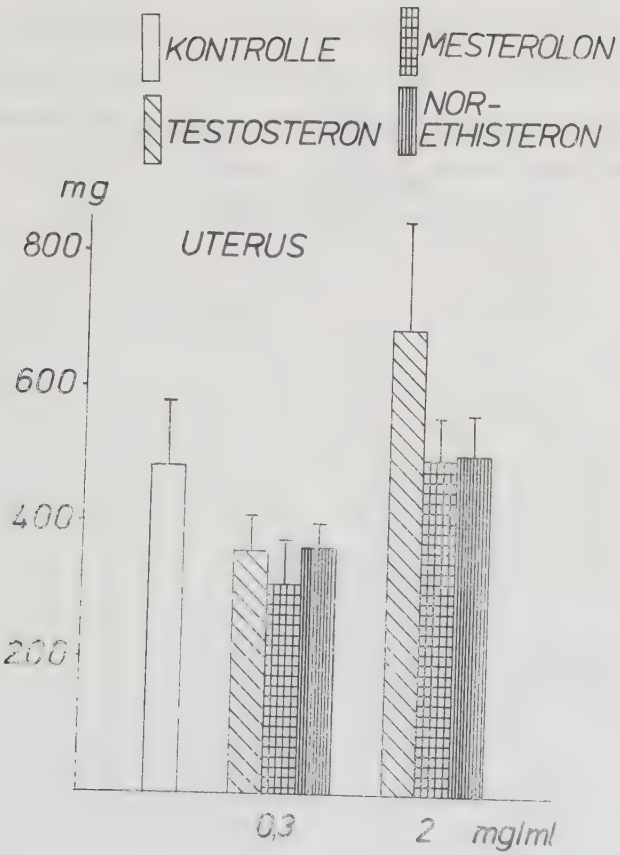


Abb. 33 Effekt einer täglichen Injektion zwei Wochen lang von 0,3 bzw. 2 mg Testosteron, Mesterolon bzw. Norethisteron auf das Uterusgewicht reifer intakter weiblicher Ratten (Mittelwert ± SEM)

Testosteron und Mesterolon supprimieren in der Dosierung von 0,3 mg die Gewichte der Ovarien signifikant ($p < 0,05$), während bei Norethisteron keine Gewichtsveränderung auftritt. Dagegen zeigte sich nur bei der 2 mg-Dosierung beim Norethisteron eine signifikante ($p < 0,05$) Gewichtsreduzierung (Abb. 34).

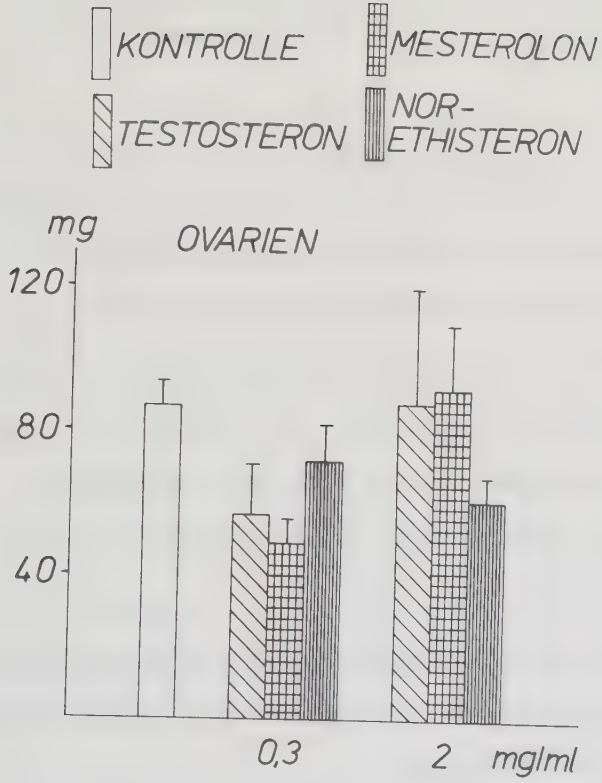


Abb. 34 Effekt einer täglichen Injektion zwei Wochen lang von 0,3 bzw. 2 mg Testosteron, Mesterolon bzw. Norethisteron auf das Ovargewicht reifer intakter weiblicher Ratten (Mittelwert ± SEM)

4. DISKUSSION

Die Effekte langwirkender Sexualsteroide in Form von Monomeren und Dimeren auf die männlichen Reproduktionsorgane wurden bereits in früheren Untersuchungen beschrieben (32).

Dagegen wurden in der vorliegenden Arbeit intakte weibliche Ratten mit dem von Kuhl et al. entwickelten dimeren Testosteron-Ethynodiol-Ester behandelt. Als Vergleichssubstanz dienten die Monomere Testosteronönanthat (T-Ö) bzw. Norethisteronönanthat (N-Ö). Das Ziel der vorliegenden Arbeit bestand u.a. darin, die unterschiedliche Wirkungsweise der Präparate im Hinblick auf ihre Depotwirkung auf Uterus, Ovarien, Hypophyse, Nebennieren, Musculus levator ani sowie die korrespondierenden Hormonserumspiegel aufzuzeigen.

T-Ö und N-Ö wurden in öliger Lösung i.m. appliziert, aus der beide Hormone als Monomere resorbiert wurden und als solche zur Wirkung kamen.

Dagegen sind bei KL 310, das ebenfalls intramuskulär injiziert wurde, die Steroidanteile zu einem Dimer verestert, also chemisch gebunden. Es stellt sich nun die Frage, ob das KL 310 seine Wirkung als Dimer oder nach Spaltung durch Esterasen als Monomer ausübt.

Nach Junkmann ist anzunehmen, daß Steroidhormonester nicht nur gespalten, sondern auch ungespalten wirken können (22). P.W. Jungblut hat außerdem die Bindungsfähigkeit dimerer Steroidester an die entsprechenden Hormonrezeptoren für dimeres Östradiol nachgewiesen.

In einer früheren Untersuchung konnten Kuhl und Taubert (30) aufzeigen, daß ein großer Nachteil der monomeren Depotpräparate in ihrem hohen initialen Anstieg der Wirkstoffspiegel und dem folgenden raschen Abfall besteht. Diese Beobachtung konnte durch unsere Experimente bestätigt werden. Durch die Behandlung reifer intakter Ratten mit den monomeren Depotpräparaten (T-Ö + N-Ö) zeigte sich, soweit es die Serumspiegel des Östradiols bzw. des Testosterons anbetrifft, ein Wirkungsmaximum in der 1. und 2. Woche, um in den folgenden 4 bis 6 Wochen relativ schnell abzufallen. Auch die gewichtsmäßigen und histologischen Veränderungen der Ovarien und des Uterus entsprechen der Abgabe von N-Ö + T-Ö aus dem Depot.

Dagegen zeigte sich bei der Verabreichung der dimeren Substanz KL 310 ein gleichmäßigerer und flacherer Kurvenverlauf des Östradiol- und Testosteronserumspiegels. Dies läßt sich mit einer gleichmäßigeren Freisetzung aus primären Depots in der Muskulatur der Injektionsstelle oder aus sich möglicherweise bildenden sekundären Depots im Fettgewebe und einer verlangsamten Metabolisierung erklären (2, 25).

Auch die Gewichtsentwicklung von Ovarien und Uterus lassen hier eine gleichmäßigere Wirkungsweise des Ethynodiol-Testosteron-Esters erkennen. Daraus läßt sich folgern, daß KL 310 den Anforderungen eines Depotpräparats, wie z.B. ein innerhalb der therapeutischen Breite verlaufender Wirkspiegel über die gesamte Wirkdauer, besser entspricht.

Aus einer früheren Arbeit (32) geht hervor, daß KL 310 ausgeprägte androgene und gestagene Partialwirkungen besitzt, vermutlich als intakter Ester wirkt und daher sowohl am Androgen- als auch am Gestagenrezeptor binden kann. Welcher Teil des Dimers dabei zur Wirkung kommt, wird u.a. durch die Affinität bestimmt (33, 20, 43).

So ist weiterhin bekannt, daß Sexualhormone die Sexualorgane und ihre Funktionen nicht nur direkt (lokal), sondern auch indirekt (zentral) über das Hypophysenvorderlappen-Zwischenhirnsystem beeinflussen können (3, 37).

Um diese verschiedenen Wirkungskomponenten zu untersuchen, wurden reifen intakten Ratten die Substanzen T-Ö + N-Ö sowie KL 310 intramuskulär injiziert. Dabei zeigte sich während der ersten beiden Wochen eine vorübergehende uterotrophe und luteotrophe Wirkung. Dabei dürfte die östrogene Partialwirkung der beiden Steroide

- nach begrenzter Umwandlung des Testosterons in Östradiol bzw. Norethisterons in Äthinylöstradiol - eine Rolle spielen. Diese utero- und luteotrophen Effekte zeigen sich in einer Zunahme der Gewichte von Ovarien und Uterus in den ersten beiden Wochen. Ebenso zeigen sich diese Wirkungen auch anhand des Östradiol- und des Testosteronserumspiegels, die ebenfalls in den ersten beiden Wochen einen starken Anstieg erfahren, um anschließend abzufallen. Der vorübergehende luteotrophe Effekt ließ sich auch histologisch verifizieren. So zeigen die Corpora lutea nach zweiwöchigem Versuchsverlauf eine deutliche Größenzunahme, die auf eine Stimulierung ihrer Funktion zurückgeführt werden kann (17, 49). Die aufgezeigten Veränderungen können als direkter Effekt (organbezogene Wirkung) der Substanzen angesehen werden. Daß es sich hierbei nicht um einen indirekten Effekt handelt, zeigt sich anhand der Suppression des LH-Serumspiegels in den ersten beiden Wochen, da die Suppression durch das Anfluten der Substanzen bewirkt wurde. Der nach 6 Wochen auftretende Wiederanstieg des LH-Serumspiegels, der Abfall des Östradiol- und Testosteronserumspiegels sowie die eintretende Reduktion der Ovarien- und der Uterusgewichte sind mit einem Nachlassen der Depotwirkung zu erklären.

Die anfänglich aufgetretenen uterotrophen und luteotrophen Effekte sind u.a. auch auf die gestagene Komponente der Substanzen zurückzuführen. Außerdem kann die Gabe von Progesteron die Ovulation sowohl hemmen als auch fördern. Welche Wirkung eintritt, hängt ab vom Zeitpunkt und der Dauer der Verabreichung, der applizierten Menge, von der Art des Zusammenwirkens mit Östrogenen und vom Funktionszustand des Ovars bzw. Zyklusstadiums (3).

Es stellt sich jedoch die Frage, inwieweit die beschriebenen Wirkungen evtl. durch androgenen Anteil der Substanzen hervorgerufen wurden.

So ist bekannt, daß Androgene zwar einen hemmenden Einfluß auf die Freisetzung der Gonadotropine ausüben, andererseits aber auch - vor allem bei höherer Dosis - einen direkten Effekt auf die Zielorgane haben (10). Es wurde beschrieben, daß Testosteron in der Lage ist, inaktive Corpora lutea zu transformieren und so eine progestomimetische Wirkung auszuüben (10). Zudem besitzen Androgene die Fähigkeit, die ovarielle Progesteronsynthese in vivo und in vitro zu steigern und auf die Follikelfunktion einzuwirken (11, 35, 34).

Um eine evtl. vorhandene anti-östrogene Wirkung des Testosteron-Ethynodiol-Esters zu ermitteln und den Langzeiteffekt hierbei festzustellen, wurden weibliche Ratten beidseitig kastriert (Allen-Doisy-Test) (1). Es ist bekannt, daß die beidseitige Gonadektomie weiblicher Ratten einen erheblichen Eingriff in den ovariellen Regelkreis darstellt, der zur Entkoppelung zwischen Ovar und der hypothalamo-hypophysären Achse führt (5, 6, 40, 52). Dies hat zur Folge, daß die Aufrechterhaltung der Homöostase und der zyklusgerechten Hormonprofile nicht mehr möglich ist. Es ist vor allen der "long-loop-feedback" (langer Regelkreis über die Ovarien), der durch den Wegfall der gonadalen Steroide unterbrochen wird (Kuhl und Taubert) (12, 15, 30). Eine weitere Folge der Kastration ist die Unterdrückung der östrogeninduzierten Verhornung des Vaginalepithels. Durch die Substitution mit einer einmaligen Dosis Östradiolundecylat (einem Depot-Östrogen) gelangen die Tiere in einen Daueröstrus. Dieser induzierte Daueröstrus läßt sich durch die Gabe von anti-östrogen wirkenden Sexualsteroiden unterdrücken. Der Zeitraum dieser anti-östrogenen Wirkung ist ein Maß für die Depoteffekte der Testsubstanzen (23), in diesem Falle KL 310, T-Ö sowie N-Ö.

In dem von uns durchgeführten Versuch wurde festgestellt, daß T-Ö, N-Ö und KL 310 auch eine gewisse anti-östrogene Wirkung besitzen. Das Testosteron-önanthat weist jedoch, als reines Androgen, eine doppelt so lange anti-östrogene Depotwirkung, bezogen auf die Äquivalentdosis, wie das KL 310 auf. Somit zeigte sich, daß der dimere Ester KL 310 keinen so ausgeprägten anti-östrogenen Depoteffekt besitzt.

Da KL 310, wie bereits erwähnt, aus einer androgenen und gestagenen Komponente besteht, lassen sich auch anabole Partialwirkungen vermuten. Denn anabol wirksame Steroide sind häufig Derivate von Testosteron, deren anaboler Effekt verstärkt und die androgene Wirkung abgeschwächt ist (18). Dabei ist davon auszugehen, daß die Hypertrophie des M.levator ani parallel mit einer Positivierung der Stickstoffbilanz einhergeht und somit als Indikator für die anabole Wirkung einer Substanz herangezogen wird (13). Aus diesem Grunde wurde in der vorliegenden Arbeit auch die Gewichtsentwicklung des M.levator ani bestimmt. So ist nach der einmaligen Injektion von KL 310 in der Dosierung von 5 und 10 mg nach 2 Wochen eine signifikante ($p < 0,05$) Gewichtszunahme gegenüber den Kontrolltieren festzustellen. Dieser Wachstumsvorsprung gleicht sich jedoch nach 8 bis 12 wöchiger Versuchsdauer wieder aus, so daß

insgesamt keine wesentlichen Gewichtsunterschiede gegenüber den unbehandelten Tieren bestehen. Daraus geht hervor, daß KL 310 auch eine gewisse anabole Eigenschaft besitzt.

Wie bereits bekannt, sind Gestagene in der Lage, die nach halbseitiger Kastration zu beobachtende kompensatorische Ovarhypertrophie zu hemmen. Diese Hemmung beruht vor allem auf einer Reduzierung der Corpora lutea und wird als antigonadotroper Effekt gedeutet (10). Andere Autoren (19, 39, 50) haben beschrieben, daß die Hemikastration einen vorübergehenden Anstieg des Serum-FSH bewirkt, während sich der LH-Spiegel nur leicht verändert. Trotz der Hemikastration kommt bei dem in der Ratte verbleibenden Ovar im allgemeinen die gleiche Anzahl von Oozyten zur Ovulation wie von den beiden Ovarien intakter Tiere zusammen (39, 48).

In unserem Versuch mit reifen weiblichen einseitig kastrierten Ratten fällt auf, daß zunächst mit steigender Dosis KL 310 die kompensatorische Hypertrophie immer mehr gehemmt wurde bis zur Dosis von 5 mg. Bei höheren Dosierungen wurde dieser Effekt jedoch wieder aufgehoben.

Histologisch waren verkleinerte und in ihrer Anzahl verminderte Corpora lutea zu sehen. Dies läßt auf einen antilutealen Effekt des KL 310 schließen. Dieser antiluteale Effekt der dimeren Substanz dürfte mit den LH-Serumspiegelwerten zusammenhängen, die mit zunehmender Dosierung drastisch abnehmen (51). Die Unterdrückung des LH beruht wahrscheinlich auf einer Suppression der LH-RH-Freisetzung aus dem Hypothalamus durch den dimeren Ester bzw. der einzelnen abgespaltenen Steroide und möglicherweise auch auf einem direkten Hemmeffekt auf die Hypohyse. Dabei ist davon auszugehen, daß die dimere Substanz sowohl direkt an der hypothalamo-hypophysären Achse als auch lokal seine Wirkung ausüben kann (24, 47).

Während beim Uterus und den Ovarien die Dosierungen 1 und 5 mg zur Gewichtsreduktion führen, ist bei den Dosierungen von 10 bzw. 20 mg KL 310 eine starke Gewichtszunahme festzustellen.

Die Gewichtsreduktion und die histologischen Veränderungen - Abnahme der Wandstärke und Endometriumshöhe, sowie das Auftreten englumiger Drüsen - könnten damit erklärt werden, daß bei der niedrigeren Dosierung die antigonadotropen Wirkungen der dimeren Substanz überwiegend zum Zuge kommen, während bei einer höheren Dosierung zwar weiterhin die

Gonadotropine supprimiert sind, gleichzeitig aber durch die lokale Wirkung des Dimers bei höherer Konzentration das Wachstum des Uterus und der Ovarien angeregt wird (32). Neben der starken Gewichtszunahme bei höheren Dosen KL 310 finden sich morphologische Phänomene, wie sie auch bei einer Schwangerschaft auftreten: eine vergrößerte Wandstärke, ein hohes Endometrium, eine stark aufgefaltete Oberfläche, an die Oberfläche mündende erweiterte, stark geschlängelte Drüsen. Die schwangerschaftsähnlichen Veränderungen des Uterus lassen sich durch die gestagene Partialwirkung der dimeren Substanz erklären.

Eine mögliche Rolle des androgenen Anteils des Dimers bedarf jedoch noch einer weiteren Erörterung.

So ist bekannt, daß hohe Testosteron- und Dihydrotestosterondosen das uterine Wachstum stimulieren (41, 14).

Dabei ist festzustellen, daß unabhängig vom Grad der uterinen Wachstumsstimulation Androgene Stimulatoren der uterinen Progesteronrezeptorsynthese sind (44). Die Induzierung der Progesteronrezeptorsynthese wird über die Umwandlung des Testosterons (Androgen) in Östrogen vermittelt (42), da das Östrogen außer zur Bildung seiner eigenen auch zur

Bildung von Progesteronrezeptoren in der Lage ist. So ist es großen Mengen Androgen - über die Bildung geringer Mengen Östrogen - möglich, das Angebot an gestagenen Rezeptoren zu erhöhen und so eine gestagene Wirkung im Uterus zu erzielen.

Hier stellt sich nun die Frage, ob der androgene Anteil des KL 310 auch eine direkte Wirkung auf das Uteruswachstum ausüben kann. Um dies festzustellen, wurden Versuchstiere mit Mesterolon und Testosteron behandelt. Dabei zeigte sich bei Testosteron in höherer Dosierung eine signifikante Zunahme des Uterusgewichtes, während Mesterolon keine Gewichtsveränderungen verursachte. Da Testosteron, im Gegensatz zu Mesterolon, in Östrogene umgewandelt werden kann, ist hier eine direkte (lokale) Wirkung des aus Testosteron entstehenden Östradiols anzunehmen (18).

Eine weitere Bestätigung für die direkte als auch indirekte Wirkungsweise des dimeren Esters - und auch der monomeren Substanzen - zeigte sich bei neugeborenen weiblichen Ratten, die am 1. und 2. Lebenstag mit KL 310, T-Ö sowie N-Ö behandelt wurden. Im Alter von 60 Tagen wurden die Tiere dekapitiert.

Man hat festgestellt, daß bei der Ratte unmittelbar nach der Geburt innerhalb weniger Tage die sexualhormonabhängige Hypothalamusdifferenzierung erfolgt (31). Das später für den weiblichen Organismus typische zyklische Geschehen, das vom zyklischen Sexualzentrum gesteuert wird, kann durch unmittelbar nach der Geburt verabreichte hohe Androgenspiegel irreversibel blockiert werden. Diese irreversible Blockierung des zyklischen Zentrums, das im vorderen Hypothalamus im präoptischen Bereich liegt, hat verschiedenartige Veränderungen zur Folge: die später nur für die männliche Ratte typische tonische Gonadotropinsekretion (31, 36); Abnormitäten in der Entwicklung der gonadalen Funktion wie polyzystische Ovarien, denen die Corpora lutea fehlen und als Folge davon eine permanente Sterilität; die Vaginalzytologie zeigt eine persistierende Cornifikation. Außerdem entwickeln sich abnorme sexuelle Verhaltensweisen vom männlichen Typ (16).

Weitere Folgen des "early-androgen-syndroms" bestehen darin, daß neonatal mit Androgenen behandelte Ratten später nicht ovulieren können. Die Störung der Ovarialfunktion bewirkt weiterhin keine adäquate Follikelaktivität, die dauernde schwache Östradiolproduktion führt zum Daueröstrus. Ebenso wird angenommen, daß sich während der neonatalen Periode

der endokrine Regulationsmechanismus, der für das weibliche Reproduktionssyst-em verantwortlich ist, in einem Ruhestadium befindet (45). Dabei ist noch nicht geklärt, ob die Zielorgane in der neonatalen Periode ebenfalls hormonell resistent sind.

Bei den von uns behandelten Tieren zeigte sich, daß die Ovar- und Uterusgewichte durch alle verwendeten Substanzen - bei KL 310 in allen Dosierungen signifikant ($p < 0,05$) - supprimiert wurden. Dies könnte sowohl auf die indirekte als auch auf die direkte Wirkung des KL 310 zurückzuführen sein, da der dimere Ester indirekt die hypothalamo-hypophysäre Achse und auch direkt (lokal) seine Erfolgsorgane beeinflussen kann. Nach Dörner (9) dürfte die Gewichtsreduzierung der Ovarien vor allem auf den Mangel an Gelbkörper bei den frühandrogenisierten weiblichen Ratten zurückzuführen sein.

Die von uns beobachtete auffallende Gewichtszunahme der Nebennieren gegenüber der Kontrollgruppe läßt auf eine Hypertrophie und evtl. Funktionszunahme schließen. Diese Befunde lassen sich mit den Untersuchungen von Mäusle et al. (38) in Einklang bringen. In einer ultramorphometrischen Studie konnten sie zeigen, daß die neonatale Gabe von Testosteronpropionat bei weiblichen Tieren eine Zunahme des

Kernvolumens, der Mitochondrien, der Liposomen und des endoplasmatischen Retikulums verursacht. Diese funktionsspezifischen morphologischen Parameter weisen auf eine gestiegene Aktivität der individuellen Zelle hin, die sich in der Zona fasciculata der Nebenniere befindet (38), wobei diese aufgezeigten Veränderungen auf kompensatorische Aktivitäten der Nebenniere zurückgeführt werden könnten.

Somit kann gesagt werden, daß der Testosteron-Ethynodiol-Ester ausgeprägte gestagene und androgene Partialwirkungen aufweist, den Anforderungen eines Depotpräparats entspricht und sowohl direkt an den Sexualorganen angreift als auch indirekt das hypothalamo-hypophysäre System supprimiert.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Bei der Verabreichung des dimeren Testosteron-Ethynodiol-Esters erwies sich dieser bei weiblichen Ratten als ein Präparat mit guten Depoteigenschaften. Nach der Gabe von KL 310 zeigte sich ein gleichmäßigerer und flacherer Kurvenverlauf der Hormonspiegel (Östradiol bzw. Testosteron) verglichen mit den verabreichten monomeren Depotpräparaten Testosteronönanthat + Norethisteronönanthat, deren Nachteil in ihrem hohen initialen Anstieg der Wirkstoffspiegel und in ihrem raschen Abfall bestand. Diese bessere Depoteigenschaft des KL 310 ist auf die kontinuierliche Freisetzung der dimeren Substanz aus primären Depots in der Muskulatur der Injektionsstelle oder aus sich möglicherweise bildenden sekundären Depots im Fettgewebe und einer verlangsamten Metabolisierung zurückzuführen.

Die deutliche Suppression der LH-Serumspiegelwerte nach der Gabe von KL 310 kann durch eine Hemmung der LH-RH-Freisetzung aus dem Hypothalamus durch den dimeren Ester bzw. der einzelnen abgespaltenen Steroide und mit einer Beeinflussung der Hypophyse erklärt werden. Daher ist sowohl eine indirekte Wirkung der dimeren Substanz an der hypothalamo-hypophysären Achse als auch ein lokaler Effekt an den Zielorganen anzunehmen.

Die sowohl indirekte als auch direkte Wirkung des KL 310 zeigte sich auch bei neonatal androgenisierten weiblichen Ratten. Für die indirekte Wirkung spricht, daß die Gabe des dimeren Sexualsteroids bei den Tieren zu einer irreversiblen Blockierung des zyklischen Zentrums führt, so daß später nur die für die männliche Ratten typische tonische Gonadotropinsekretion erfolgt. Die direkte Wirkung verursacht morphologische Veränderungen, wie polyzystische Ovarien ohne Corpora lutea, eine permanente Sterilität, eine persistente Cornifikation der Vaginalschleimhaut sowie eine Gewichtsreduktion von Ovarien und Uterus.

Aus der vorliegenden Arbeit geht außerdem hervor, daß das dimere Sexualsteroid KL 310 ausgeprägte androgene und gestagene Partialwirkungen besitzt. Das bei reifen intakten Ratten intramuskulär injizierte KL 310 rief vorübergehende uterotrophe und luteotrophe Effekte hervor. Eine geringe östrogene Partialwirkung des Dimers dürfte durch eine begrenzte Umwandlung des Testosteronanteils in Östradiol bzw. des gestagenen Anteils in Äthinylöstradiol zu erklären sein, wie auch aus dem Östradiolserumspiegel zu ersehen ist. Zudem weist die Gewichtsentwicklung des M.levator ani auch auf geringe anabole Eigenschaften des KL 310 hin.

6. LITERATURVERZEICHNIS

(1) Allen, E. and E.A. Doisy:
An ovarian hormone-preliminary report on its localization, extraction and partial purification, and action in the test animals
J. Amer.med.Ass. 81: 819 (1923)

(2) Bellmann, O., H.J. Duhme and 4. Gerhards:
In vitro studies on enzymatic cleavage of steroid esters in the female organism
Acta endodrinologica (Kbh) 81: 877 (1976)

(3) Caligaris, L., J.J. Astrada and S. Taleisnik:
Biphasic effect of progesterone on the release of gonadotropins in the rat
Endocrinology 89: 331 (1971)

(4) Cavalli-Sforza, L.:
Grundbegriffe der Biometrie, insbesondere der statistischen Methoden bei der Wertbemessung biologisch wirksamer Substanzen
Gustav-Fischer-Verlag, Stuttgart (1964)

(5) Clayton, R.N. and K.J. Catt:
Regulation of Pituitary Gonadotropin-Releasing Hormone Receptors by Gonadal Hormones
Endocrinology 108: 887 (1981)

(6) Cooper, K.J., C.P. Fawcett and S.M. Mc Cann:
Augmentation of pituitary responsiveness to luteinizing hormone/follicle stimulating hormone releasing factor (LH-RF) as a result of acute ovariectomy in the fourday cyclic rat
Endocrinology 96: 1123 (1974)

(7) Damassa, D.A., E.R. Smith, B. Tennent and J.M. Davidson:
The relationship between circulation testosteron levels and male sexual behavoir in rats
Horm. Behavoir 8: 275 (1977)

(8) Davidson, J.M., E.R. Smith and D.A. Damassa:
Comparative analysis of the roles of androgen in feedback mechanism and sexual behavoir
In: Martini, L. and M. Motta (eds.): Androgens and Antiandrogens, Raven Press, New York (1977) pp. 137

(9) Dörner, G.:
Sexualhormonabhängige Gehirndifferenzierung und Sexualität
VEB Gustav Fischer-Verlag Jena (1972) pp. 172

(10) Emmens, C.W., R.J. Cox and L. Martin:
Antiestrogens
Recent Progr.Hormone Res. 18: 415 (1962)

(11) Farookhi, R.:
Effects of Androgen on Induction of Gonadotropin Receptors and Gonadotropin-Stimulated Andenosine 3', 5'-Monophosphate Production in Rat Ovarian Granulosa Cells
Endocrinology 106: 1216 (1980)

(12) Fink, G.:
Feedback actions of target hormones on hypothalamus and pituitary with special reference to gonadal steroids
Annual Review of Physiology 41: 571 (1979)

(13) Forth, W., D. Henschler, W. Rummel, H. Kurz und H.G. Neumann:
In: Allgem. u. spezielle Pharmakologie und Toxikologie
B.I.-Wissenschaftsverlag Mannheim/Wien/Zürich (1977)

(14) Gonzales-Diddi, M., B. Komisaruk and C. Beyer:
Differential Effects of Testosterone and Dihydrotestosterone an the Diverse Uterine Tissues of the Ovariektomized Rat
Endocrinology 91: 1129 (1972)

(15) Goodmann, R.L.:
The site of the positive feedback action of estradiol in the rat
Endocrinology 102: 151 (1978)

(16) Griffiths, E.C. and K.C. Hooper:
The Effect of Neonatal Androgen on the Activity of Certain Enzymes in the Rat Hypothalamus
Acta Endocrinologica 70: 767 (1972)

(17) Groen-Klavant, A.C.:
An autoradiographic Study of Follicle Growth in the Ovaries of the Cyclic Rats
Acta Endocrinologica: 96: 377 (1981)

(18) Helwig, B. und H. Helwig:
Moderne Arz-neimittel, Wissenschaft-l. Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart (1980) pp. 1302

(19) Howland, B.D. and K.R. Skinner:
Effect of hemiovariectomy on serum FSH and LH levels during the oestrous cycle in the rat
J. Reproduct. and Fertil. 32: 501 (1973)

(20) Jensen, E.V., E.R. DeSombre and P. Jungblut
In: Wissler, R.W., T.L. Dao and S. Wood, Jr. (eds.), International Symposium on Endogenous Factors Influencing Host-Tumor Balance, University of Chicago Press, Chicago, 1967, pp. 15

(21) Junkmann, K. und H. Witzel:
Chemie und Pharmakologie von Steroidhormon-Estern
Z. Vitamin-Hormonforschung 9: 227 (1956)

(22) Junkmann, K.:
Long-acting steroids in reproduction
Recent Progress Hormone Research 13: 389 (1957)

(23) Junkmann, K.:
Über die Entwicklungen auf dem Gestagengebiet.
15. Meeting Gen. Assembly of the Japan Medical Congr., Vol. I, Tokyo (1959) pp. 697

(24) Kalra, S.P. und P.S. Kalra:
Temporal interrelationship among circulating levels of estradiol, progesterone and LH during the rat estrous cycle: effects of exogenous progesterone.
Endocrinology 95: 1711 (1974)

(25) Kuhl, H., J. Braun, J.S.E. Dericks-Tan and H.D. Taubert:
The biological activity of dimeric testosterone, a new long-acting androgen, and of testosterone enanthate in the castrated male rat
Hormone Research 10: 252 (1979)

(26) Kuhl, H. and H.D. Taubert:
A new class of long-acting steroid preparation: Synthesis of dimeric androgens coupled at C_3-C_3 and C_{17}-C_3 and of an androgen-progesteron combination Steroids 28: 89 (1976)

(27) Kuhl, J. and H.D. Taubert:
A new class of long-acting hormonal steroid preparation:
Synthesis of oligomeric estradiol derivates
Steroids 22: 73 (1973)

(28) Kuhl, H. and H.D. Taubert:
A new class of long-acting hormonal steroid preparation:
Synthesis of ethynodiol and nortestosteron, of dimeric and trimeric androgens and of some dimeric combinations of steroids
Steroids 24: 613 (1974)

(29) Kuhl, H., W. Auerhammer and H.D. Taubert:
Oligomeric oestradiol esters: A new class of long-acting oestrogens
Acta endocrinologica (Kbh) 83: 439 (1976)

(30) Kuhl, H. and H.D. Taubert:
In: Kontrazeption mit Hormonen: ein Leitfaden für die Praxis
Thieme-Verlag, Stuttgart-New York (1981)

(31) Kuhl, H.:
Fetale Hormonspiegel und Sexualdifferenzierung
In: Medizin in unserer Zeit 3: 84 (1979)

(32) Kuhl, H., I. Franz, H.J. Born, M. Schneider and H.D. Taubert:
Reversible Inhibition of Spermatogenesis by a long-acting dimeric ethynodiol-testosterone ester
Contraception 24: 61 (1981)

(33) Lan, N.C. and B.S. Katzenellenbogen:
Temporoal Relationship between Hormone-Receptor-Binding and Biological Responses in the Uterus: Studies with Short- and long-acting Derivates of Estriol
Endocrinology 98: 220 (1976)

(34) Leung, P.C., A.K. Goff and D.T. Armstrong:
Stimulatory action of androgen administration in vivo on ovarian responsiveness to gonadotropins
Endocrinology 104: 1119 (1979)

(35) Louvet, J.P., S.M. Harman, J.R. Schreiber and G.T. Ross:
Evidence for a role of androgens in follicular maturation
Endocrinology 97: 366 (1975)

(36) Mac Kinnon, P.C.B., J.M. Mattock and M.B. ter Haar:
Serum gonadotropin levels during development in male, female and androgenized female rats and the effect of general disturbance on high luteinizing hormon levels
J.Endocrinol. 70: 361 (1976)

(37) Mahesh, V.B., T.G. Muldoon, J.C. Eldridge and K.S. Korach:
The role of steroid hormones in the regulation of gonadotropin secretion
J. Steroid Biochem. 6: 1025 (1975)

(38) Mäusle, E. and G. Fickinger:
Ultramorphometric studies of the Adrenal Cortex of Adult Rats after Neonatal Administration of Sex Steroids
Acta Endocrinologica (Kbh) 81: 537 (1976)

(39) Otani, T. and S. Sasamoto:
Plasma and pituitary hormone changes and follicular development after unilateral overiectomy in cyclic rats
J. Reproduct. and Fertil. 65: 347 (1982)

(40) Ramirez, V.D. and C.H. Sawyer:
Differential dynamic responses of plasma LH and FSH to ovariectomy and to a single injection of estrogen in the rat
Endocrinology 94: 987 (1974)

(41) Rochefort, H. and M. Garcia:
Androgen on the Estrogen Receptor Binding and in vivo Nuclear Translation
Steroids 9: 8 (1976)

(42) Rochefort, H. and F. Lignon:
Differences between the Estradiol and Testosterone Receptors in Rat Uterus
Eur. Journal of Biochemistry 48: 503 (1974)

(43) Saiduddin, S. and H.P. Zassenhaus:
Estradiol-17 ß Receptors in the Immature Rat Ovary
Steroids 29: (1977)

(44) Schmidt, W.N. and B.S. Katzenellenbogen:
Androgen-uterine interactions: an Assessment of Androgen Interaction with the Testosterone- and Androgen-Receptor Systems and Stimulation of Uterine growth and Progesterone-Receptor-Synthesis
Molecular and Cellular Endocrinology 15: 91 (1979)

(45) Schulz, K.D., H. Haarmann and A. Harland:
Female endocrine Controll Mechanism during the neonatal Period
Acta Endocrinologica (Kbh) 70: 396 (1972)

(46) Taubert, H.D.
In: Gynäkologie und Geburtshilfe, Hrsg.Schmidt-Matthiesen, Schattauer-Verlag, Stuttgart-New York (1979) pp. 631

(47) Taya, K., P.F.Terranova and G.S. Greenwald:
Acute Effects of Exogenous Progesterone on Follicular Steroidgenesis in the Cyclic Rat
Endocrinology 108: 2324 (1981)

(48) Toyoda, Y.:
Studies on the mechanism determining ovulation rate in the rat. II. On the number of ova shed after unilateral ovariectomy
Jap.Journal of Animal Reproduction 8: 4 (1962)

(49) Uilenbroek, J.Th.J. and J.S. Richards:
Ovarien follicular development during the rat estrous cycle: gonadtotropin receptor and follicular responsiveness
Biol. Reproduction 20: 1159 (1979)

(50) Welschen, R., J. Dullaart and F.H. de Jong:
Interrelationships between circulating levels of estradiol-17 ß, progesterone, FSH and LH immediately after unilateral ovariectomy in the cyclic rat
Biol.Reproduction 18: 421 (1978)

(51) Yamamoto, M., N.D. Diebel and E.M. Bogdanove:
Analysis of the initial and delayed effects of orchidectomy and overiectomy on pituitary and serum LH levels in adult and immature rats
Endocrinology 86: 102 (1970)

(52) Zanisi, M. and L. Martini:
Differential effects of castration on LH and FSH secretion in male and female rats
Acta Endocrinologica 78: 683 (1975)

8. ANHANG DER MESSWERTE

Zeit nach Injektion (Wochen)	Ovarien (mg)	Uterus (mg)	Hypophyse (mg)	Nebennieren (mg)	M.levator ani (mg)
	$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$
		Kontrollen = 0,5 ml Arachisöl			
2	78 ± 10	359 ± 102	2,4 ± 0,2	58 ± 9	46 ± 3
4	74 ± 8	426 ± 115	2,4 ± 0,2	57 ± 5	172 ± 33
8	71 ± 5	390 ± 84	3,4 ± 0,3	56 ± 8	259 ± 37
12	63 ± 10	314 ± 53	2,2 ± 0,6	46 ± 7	257 ± 39
		KL 310 5 mg			
2	63 ± 12	545 ± 104	3,0 ± 0,9	54 ± 4	135 ± 60
4	35 ± 5	284 ± 73	2,7 ± 0,6	52 ± 1,7	173 ± 36
8	35 ± 17	350 ± 79	3,6 ± 0,4	54 ± 5	258 ± 17
12	47 ± 13	249 ± 62	1,5 ± 0,4	56 ± 6	258 ± 43
		KL 310 10 mg			
2	63 ± 10	706 ± 119	3,2 ± 0,4	40 ± 2	247 ± 50
4	46 ± 10	297 ± 73	3,4 ± 0,4	59 ± 3	214 ± 32
8	24 ± 5	296 ± 28	3,8 ± 0,4	55 ± 6	265 ± 30
12	37 ± 9	318 ± 53	1,9 ± 0,3	59 ± 12	269 ± 32

Tab. 1 Die Wirkung einer einmaligen Injektion von 5 bzw. 10 mg KL 310 auf das Organgewicht von Ovarien, Uterus, Hypophyse, Nebennieren und M.levator ani reifer intakter weiblicher Ratten (Mittelwerte ± SEM)

Gruppe	li.Ovar (mg)	re.Ovar (mg)	Uterus (mg)	LH-Serumspiegel (ng/ml)	Östradiolserum-spiegel (pg/ml
	$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$
Kontrolle (Arachisöl)	30 ± 7	53 ± 9	317 ± 61	23,3 ± 18,3	11,3 ± 5,9
KL 310 10 µg	30 ± 5	52 ± 5	300 ± 34	13,4 ± 7,8	7,8 ± 1,0
KL 310 100 µg	28 ± 5	50 ± 6	305 ± 107	17,6 ± 18,2	7,8 ± 1,1
KL 310 1 mg	31 ± 3	37 ± 5	231 ± 48	6,8 ± 7,2	8,0 ± 1,2
KL 310 5 mg	28 ± 1	33 ± 5	242 ± 25	7,9 ± 3,6	7,8 ± 0,8
KL 310 10 mg	25 ± 6	43 ± 7	518 ± 210	3,1 ± 1,9	7,6 ± 1,3
KL 310 20 mg	27 ± 3	55 ± 11	610 ± 90	1,85 ± 0	13,8 ± 6,7

Tab. 2

Die Wirkung steigender Dosen des Testosteron-Ethynodiol-Esters auf verschiedene Organe und den LH- und Östradiolserumspiegel bei der unilateral ovariektomierten Ratte

Zeit nach Injektion (Wochen)	Ovarien (mg)	Uterus (mg)	Hypophyse (mg)	LH-Serum-spiegel (ng/ml)	Östradiol-Serumspiegel (pg/ml)	Testosteron-Serumspiegel (ng/ml)
	$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$
		Kontrolle = 0,5 ml Arachisöl				
1	55 ± 7	288 ± 100	9,3 ± 1,2	20,8 ± 5,6	10,0 ± 1,9	0,69 ± 0,17
2	73 ± 8	366 ± 75	10,5 ± 1,0	22,3 ± 13,7	17,5 ± 10,8	0,69 ± 0,17
4	46 ± 6	308 ± 95	10,8 ± 1,6	17,5 ± 5,6	14,7 ± 7,8	0,57 ± 0,14
6	68 ± 11	252 ± 26	9,8 ± 1,2	17,0 ± 11,3	9,0 ± 0,9	0,73 ± 0,19
8	74 ± 21	389 ± 95	10,8 ± 0,8	27,4 ± 19,7	11,8 ± 7,6	0,60 ± 0,23
		KL 310 10 mg				
1	67 ± 13	423 ± 36	12,8 ± 2,3	3,3 ± 1,7	19,5 ± 9,3	2,17 ± 0,77
2	55 ± 12	466 ± 105	15,8 ± 2,4	2,3 ± 0,9	11,0 ± 1,5	1,47 ± 0,31
4	54 ± 5	329 ± 61	13,6 ± 1,0	2,7 ± 1,2	7,7 ± 0,8	1,26 ± 0,42
6	26 ± 1	260 ± 40	10,5 ± 0,9	3,6 ± 2,3	7,3 ± 1,5	0,95 ± 0,83
8	23 ± 8	198 ± 36	9,1 ± 0,8	9,8 ± 8,6	6,8 ± 0,8	0,77 ± 0,16
		KL 310 20 mg				
1	65 ± 13	421 ± 49	13,6 ± 2,3	3,35 ± 1,02	22,2 ± 13,2	3,48 ± 0,75
2	83 ± 26	719 ± 200	16,4 ± 3,1	4,01 ± 2,93	28,0 ± 18,5	2,25 ± 0,88
4	51 ± 16	447 ± 182	15,1 ± 2,6	1,88 ± 0,07	8,7 ± 2,1	1,85 ± 0,60
6	35 ± 16	431 ± 164	13,6 ± 0,9	2,15 ± 0,28	6,0 ± 0,9	1,27 ± 0,46
8	21 ± 10	282 ± 42	10,6 ± 1,8	6,26 ± 5,57	8,8 ± 5,3	1,30 ± 0,45

Zeit nach Injektion (Wochen)	Ovarien (mg)	Uterus (mg)	Hypophyse (mg)	LH-Serum-spiegel (ng/ml)	Östradiol-Serumspiegel (pg/ml)	Testosteron-Serumspiegel (ng/ml)
	$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$
	Testosteronönanthat + Norethisteronönanthat 6 mg/6 mg					
1	53 ± 10	445 ± 101	11,2 ± 1,9	3,6 ± 1,3	21,0 ± 15,3	2,37 ± 1,20
2	100 ± 19	733 ± 107	15,0 ± 3,8	2,3 ± 0,8	21,3 ± 8,8	1,12 ± 0,54
4	49 ± 12	552 ± 135	12,9 ± 1,6	2,6 ± 1,2	11,5 ± 3,9	0,80 ± 0,13
6	41 ± 11	297 ± 74	8,5 ± 1,8	11,5 ± 9,8	10,2 ± 2,0	0,41 ± 0,26
8	40 ± 18	280 ± 34	8,0 ± 1,4	10,8 ± 8,8	7,0 ± 0,9	0,86 ± 0,19
	Testosteronönanthat + Norethisteronönanthat 12 mg/12 mg					
1	50 ± 8	439 ± 41	11,5 ± 1,1	3,4 ± 2,0	60,8 ± 27,5	8,44 ± 2,08
2	82 ± 25	552 ± 125	12,6 ± 2,6	2,5 ± 1,0	65,3 ± 58,7	6,04 ± 2,0
4	52 ± 20	437 ± 161	12,9 ± 2,4	2,2 ± 0,3	10,7 ± 3,8	1,08 ± 0,87
6	35 ± 12	288 ± 65	10,4 ± 1,3	16,4 ± 24,2	8,0 ± 2,0	0,73 ± 0,45
8	28 ± 5	234 ± 44	8,5 ± 0,8	36,2 ± 39,0	6,4 ± 0,9	0,45 ± 0,28

Tab. 3

Die Wirkung einer einmaligen Injektion von 10 bzw. 20 mg KL 310 sowie 6 mg/6 mg bzw. 12 mg/12 mg Testosteronönanthat + Norethisteronönanthat auf verschiedene Organgewichte und verschiedene Serumspiegel (Mittelwerte ± SEM)

		Ovarien (mg) $\bar{x}$	Uterus (mg) $\bar{x}$
Kontrolle		86,5 ± 7,6	486,2 ± 95,2
Testosteron	0,3 mg	57,4 ± 1,3,6	360,0 ± 53,3
Mesterolon	0,3 mg	49,1 ± 7,8	311,7 ± 66,1
Norethisteron	0,3 mg	72,5 ± 9,9	358,5 ± 40,9
Testosteron	2 mg	88,5 ± 31,9	692,2 ± 161,9
Mesterolon	2 mg	92,8 ± 7,3	497,4 ± 64,9
Norethisteron	2 mg	61,1 ± 7,4	506,8 ± 56,8

Tab. 4

Die Wirkung täglicher Injektion zwei Wochen lang von 0,3 mg bzw. 2 mg Testosteron, Mesterolon bzw. Norethisteron auf die Organgewichte von Ovarien und Uterus reifer weiblicher Ratten (Mittelwerte ± SEM)

Danksagung

Herrn Prof. Dr. H. Kuhl danke ich für die Überlassung des Themas und die Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit. Herrn Prof. Dr. H.-D. Taubert möchte ich für die Bereitstellung eines Arbeitsplatzes in seiner Abteilung danken. Mein Dank gilt ferner Herrn Dr. M. Schneider für die Durchführung der histologischen und morphometrischen Untersuchungen. Nicht zuletzt danke ich Frau E. May und Frau K. Lins für ihre Hilfe während des praktischen Teils dieser Arbeit.

L E B E N S L A U F

Name:	Ruth Schneider
geboren am/in:	04.09.1950 in Lützen
Wohnort:	6555 Pleitersheim, Hauptstraße 17

1957 - 1972	Schulbesuch, Abschluß: Mittlere Reife Verwaltungslehre und Tätigkeit bei einer Justizbehörde
1972 - 1974	Hessenkolleg Wiesbaden Abschluß: Abitur
1974 - 1976	Sekretärin in einem Industriebetrieb mit 1600 Mitarbeitern
ab Oktober 1976	Medizinstudium Universität Frankfurt/Main
August 1978	Physikum
August 1979	1. Abschnitt der ärztlichen Prüfung
August 1981	2. Abschnitt der ärztlichen Prüfung
Oktober 1982	3. Abschnitt der ärztlichen Prüfung
November 1982	Approbation als Ärztin
seit April 1983	tätig als Assistenzärztin

29. August 1983

Ruth Schneider

Ehrenwörtliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, daß ich die dem Fachbereich Humanmedizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel

"Die Wirkung von monomeren und dimeren Androgen-Gestagen-Kombinationen auf die weibliche Ratte"

in der Abteilung für gynäkologische Endokrinologie des Zentrums für Frauenheilkunde und Geburtshilfe des Fachbereiches Humanmedizin in Frankfurt am Main unter Leitung von Herrn Prof. Dr. H. Kuhl mit Unterstützung durch Herrn Dr. M. Schneider ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keiner in- und ausländischen Medizinischen Fakultät ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht, noch die vorliegende Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Frankfurt am Main, den 29. August 1983

Ruth Schneider